

**Experimentelle Untersuchungen mit der heterologen,
homologen und autologen Schweineleberperfusion
und ihrer klinischen Anwendung unter Verwendung
histologischer und gasanalytischer Methoden**

von

Reinhard Spreyer

aus

Stadtsteinach

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548610_0035

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Hegemann

**Experimentelle Untersuchungen mit der heterologen,
homologen und autologen Schweineleberperfusion
und ihrer klinischen Anwendung unter Verwendung
histologischer und gasanalytischer Methoden**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Reinhard Spreyer

aus

Stadtsteinach

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly
Referent: Priv.-Doz. Dr. K. Schwemme
Korreferent: Prof. Dr. G. Hegemann
Tag der mündlichen Prüfung: 4. Aug. 1972

Inhaltsverzeichnis

=====

	Seite
A. Einleitung	1
B. Methodischer Teil	3
1. Versuchstiere	3
2. Gewinnung der Leber	3
3. Spülung der isolierten Leber	5
4. Perfusion	5
5. Klinische Anwendung der Perfusion	7
6. Vergiftung mit Allylformiat (AF) und Tetrachlorkohlenstoff (CCl ₄), Ischämien	8
7. Bestimmung von pH, Sauerstoffpartial- druck und Sauerstoffsättigung im arte- riellen und venösen Blut	10
8. Herstellung der histologischen Präparate	11
C. Ergebnisse	13
1. Gasanalysen	13
a. Heterologe, homologe und autologe Perfusionen	14
b. Ischämien	15
c. Vergiftung mit Allylformiat	16
d. Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff	19
e. Klinische Perfusion am Patienten	25
2. Histologische Ergebnisse	26
a. Heterologe, homologe und autologe Perfusionen	26

	Seite
b. Ischämien	31
c. Vergiftung mit Allylformiat	31
d. Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff	32
e. Klinische Perfusion am Patienten	35
3. Makroskopischer Anblick der Leber	35
4. Gewichtszunahme der Leber	36
D. Diskussion	37
E. Zusammenfassung	49

A. Einleitung

=====

In den letzten Jahren hat, hervorgerufen durch die steigende Anzahl der Lebererkrankungen, das Thema Leberersatz immermehr an Bedeutung gewonnen. Da jedoch einer Transplantation noch große technische und immunologische Schwierigkeiten entgegenstehen, wendet sich die Aufmerksamkeit vorerst dem temporären Leberersatz zu, d. h. einem Hilfsorgan, das extrakorporal installiert, zur Elimination der anfallenden Stoffwechselprodukte dient und somit die Periode des Leberfunktionsausfalles überbrückt. Als einem der ersten gelang es so im Jahre 1958 MARTINIS und Mitarbeitern (35), an einer isoliert perfundierten Kalbsleber eine zufriedenstellende Funktion des Organs während der Perfusionsdauer nachzuweisen.

Um nun eine erfolgreiche Perfusion durchzuführen, sind drei Forderungen zu erfüllen:

1. Das perfundierte Organ muß lebensfähig sein und bleiben, auch wenn es sich außerhalb seiner natürlichen Umgebung befindet.
2. Seine Funktion muß gut sein und zum Ersatz der ausgefallenen Funktionen der Empfängerleber genügen.
3. Die immunologischen Reaktionen des Empfängers gegenüber der Spenderleber sollen gering sein oder ganz verhindert werden.

Hier bietet sich nun die Schweineleber an, die in der Lage ist, diese Forderungen weitgehend zu erfüllen. Sie ist z. B. der menschlichen Leber nicht nur in histologischer Hinsicht sehr ähnlich, sondern ist auch gegenüber Beanspruchungen durch Operation und Perfusion relativ unempfindlich - im Gegensatz zu anderen Tierlebern wie z. B. der Hundeleber (14) - und weist außerdem verminderte immunologische Reaktionen bei der Patientenperfusion (27) auf. Weiterhin konnten verschiedene Untersucher, darunter auch BOECKL (6, 7, 8, 9, 10, 19, 33, 35), nachweisen, daß bei der Perfusion der Tierleber mit menschlichem Blut wichtige Leberfunktionen erhalten blieben und daß eine derartig perfundierte Leber in der Lage war, den

Kreislauf von Leberkomapatienten zufriedenstellend zu entgiften. Dadurch wurde der Empfängerleber während der Zeitspanne der Perfusion die Möglichkeit gegeben, sich zu erholen und zu regenerieren.

Da eine ausreichende Behandlung eines Leberkomas mittels technischer Hilfsmittel im Sinne einer "künstlichen Leber" infolge der Komplexität der Leberaufgaben in nächster Zeit nicht möglich sein wird, erscheint die befristete Übernahme der Leberfunktionen durch eine andere Leber als Hilfsorgan die einzige reale Möglichkeit zu sein, die sich bis auf weiteres anbietet.

In der vorliegenden Arbeit soll nun über experimentelle Untersuchungen mit der autologen, homologen und heterologen Schweineleberperfusion, über verschiedene Belastungstests während derselben und deren klinische Anwendung berichtet werden. Ziel war es, die Funktionsfähigkeit der Schweineleber während der normalen Perfusion, nach vorübergehender Ischämie, nach Schädigung mit Tetrachlorkohlenstoff und nach Vergiftung mit Allylformiat mit Hilfe von Gasanalysen, dazu den Grad der Leberschädigung mit Hilfe histologischer Untersuchungen festzustellen. Beide Untersuchungsarten wurden auch in zwei Fällen von klinischer Patientenperfusion angewendet.

B. Methodischer Teil

1. Versuchstiere

Zur Durchführung der Versuche wurden insgesamt 37 Schweine (15 Zwergschweine, 22 Hausschweine) verwendet. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere betrug 23 kg. Die Schweine wurden 12 Stunden vor Beginn der Versuche nüchtern gehalten.

2. Gewinnung der Leber

Zur Einleitung der Narkose wurde Äther verwendet. Daraufhin wurde an einer der Ohrvenen eine Infusion angelegt und die Narkose wurde mit 250 - 500 mg Trapanal, entsprechend dem jeweiligen Gewicht der Schweine, weiter fortgeführt. Obwohl die gesamte Operation steril durchgeführt wurde, erhielten die Tiere zusätzlich 0,5 g Binotal oder Penbrock. Zur Abpufferung bekamen sie 20 - 60 mval Natriumbikarbonat (etwa 1 mval/kg Körpergewicht). In jedem Fall wurde eine Tracheotomie mit Intubation durchgeführt und die Tiere wurden während der Operation mit einem Pulmomat beatmet. Die Schweine befanden sich dabei in Rückenlage.

Die Bauchhaut wurde rasiert, gereinigt und mit Kodan-Lösung desinfiziert. Die Bauchhöhle wurde mit einem rechtsseitigen, großen Rippenbogenrandschnitt eröffnet. Dann wurden Pfortader und Choledochus im Ligamentum hepatoduodenale freipräpariert, jedoch noch nicht unterbunden. Die a. hepatica wurde nahe der Aorta freigelegt, da erst hier das Lumen zur Einführung eines metallischen Anschlußstückes genügend groß war. Indem eine Umschlingung der freigelegten Blutgefäße vermieden wurde, konnte eine maximale Blutversorgung der Leber während der Zeitspanne der Operation erzielt werden.

Im nächsten Schritt wurde das Zwerchfell incidiert, um zur oberen Hälfte der v. cava zu gelangen. Daraufhin wurden die Verbindungen zur Leber gelöst und der infrahepatische

Anteil der v. cava inferior isoliert. Nun wurden zur Verhinderung von Thromben durch die Ohrvene 5000 Einheiten Heparin (Liquemin) injiziert.

Der Choledochus wurde nahe der Einmündung ins Duodenum ligiert und durchtrennt, um einen genügend großen Stumpf zur Kanülierung zu bekommen. Nun wurden die a. hepatica, die Pfortader und die untere Hohlvene supra- und infrahepatisch zwischen Klemmen durchtrennt und die Leber möglichst rasch entfernt.

Um den Zeitraum der "warmen Ischämie", d. h. der unterbrochenen Blutversorgung in situ, möglichst kurz zu halten, wurde die Pfortader sofort nach Abnahme der Klemmen luftblasenfrei kanüliert, die Klemmen an den beiden Cava-Stümpfen wurden abgenommen und die Spülperfusion mit unterkühlter Kochsalzlösung begann.

Erst dann kanülierten wir die a. hepatica und durchströmten sie ebenfalls mit der unterkühlten Kochsalzlösung. Mit Ausnahme eines Versuches, bei dem nur die Pfortader durchströmt wurde, verwendeten wir stets Arterie und Vene sowohl zur Durchströmung als auch zur Perfusion.

Anschließend wurde auch der ductus choledochus kanüliert, um die Galleableitung sicherzustellen, und der ductus cysticus wurde unterbunden, um eine Verfälschung der Meßergebnisse durch nachfließende Galle aus der Gallenblase zu verhindern.

Insgesamt dauerte die Operation vom Hautschnitt bis zur Leberentnahme 25 - 30 Minuten im Durchschnitt.

Im Falle einer autologen Perfusion wurde vor Leberentnahme die Aorta des operierten Tieres punktiert und wir entnahmen mit einer Vakuumflasche (mit heparinfreiem ACD-Stabilisator) etwa 900 - 1000 ml Blut bei rasch laufender Infusion. Versuche ergaben, daß bei einer Aortenpunktion nach Leberentnahme nicht genügend Blut gewonnen werden konnte, da der Rückstrom zum Herzen infolge der Durchtrennung der v. cava inferior stark beeinträchtigt wurde.

3. Spülung der isolierten Leber

Die Zeit, die zwischen Abklemmung der zuführenden Lebergefäße und Beginn der Leberspülung lag, betrug im Mittel 1 - 2 Minuten (sog. "warme Ischämiezeit"). Zur Spülung der Leber wurden 4000 ml kalter ($8 - 12^{\circ}\text{C}$) physiologischer Kochsalzlösung verwendet, denen 20 mg Heparin (Liquemin) pro 1000 ml Kochsalzlösung beigegeben waren. Als Zeichen, daß die Leber blutfrei war, konnte man die Klarheit der Spülflüssigkeit nach Austritt aus dem Organ und die hellbraune, fast weißlich-graue Eigenfarbe der Leber werten.

Zum Abschluß wurde die Leber noch mit etwa 500 - 1000 ml Dextranlösung (Neosubsidal) durchströmt. Diese enthielt kein Heparin mehr, um die Bestimmung von Prothrombin und Thromboplastinzeit nicht zu stören.

4. Perfusion

Nach Beendigung der Kaltspülung wurde die Leber an den inzwischen vorbereiteten Perfusionskreislauf angeschlossen. Dabei wurde die Zeit zwischen Leberentnahme und Beginn der Perfusion (sog. "kalte Ischämiezeit") möglichst kurz gehalten. Im Mittel benötigten wir dazu etwa 36 Minuten.

Angeschlossen wurde die Leber in einer doppelwandigen Plexiglas-Perfusionskammer, wobei die Schläuche für v. portae und a. hepatica durch Bohrungen im Deckel geleitet wurden. Durch eine seitliche Öffnung konnte die Galle mit einem sterilen Schlauch aufgefangen werden. In dem Zwischenraum zwischen den beiden Plexiglaswänden der Kammer zirkulierte erwärmtes Wasser, das durch einen Thermostaten auf einer konstanten Temperatur von 40°C gehalten wurde, so daß für die Leber eine konstante Temperatur von $37 - 38^{\circ}\text{C}$ erzielt werden konnte.

Das Blut wurde mit einer Rollerpumpe über einen Gerinnsel-fänger von einem Bubble-Oxygenator zu einem nach dem Peltier-Prinzip konstruierten Wärmeaustauscher geleitet. In den

Oxygenator wurden 1,5 - 2 Liter Sauerstoff/Minute eingeleitet und das Blut wurde so mit Sauerstoff angereichert. Mit einem elektromagnetischen Flowmeter, der zwischen Pumpe und Leber eingeschaltet war, wurde die Durchflußmenge gemessen und auf etwa 1,0 ml/g Lebergewicht pro Minute eingestellt, da mit dieser Menge die günstigsten Ergebnisse zu erzielen waren (16, 29, 34, 35, 38). Mit einer Ausnahme nur (hier wurde nur die v. portae kanüliert) wurden beide zuführenden Gefäße durchströmt. Die Pfortader wurde dabei mit einem hydrostatischen Druck von 30 - 35 cm H₂O über das Vorratsgefäß (Abb. 1) perfundiert. Zur Druckerzeugung für die a. hepatica in Höhe von 120 - 150 mm Hg wurde eine Schlauchklemme vor dem Vorratsgefäß verwendet, wobei der Druck über einen Druckumwandler (Statham) laufend kontrolliert wurde. Die annähernde Nachahmung der pulsativen Durchströmung wurde dadurch erreicht, daß jeweils nach einer halben Drehung der Rollerpumpe der arterielle Druck auf etwa 100 mm Hg absank (Abb. 1).

Zur Füllung des Perfusionskreislaufes wurden bei der heterologen Perfusion 1000 ml menschliches Konservenblut, zuweilen auch Erythrozytenkonzentrat oder Aderlaßblut verwendet. Die Konserven waren wegen ihres Alters (über 21 Tage alt) oder eines erhöhten GPT- und GOT-Gehalts für Transfusionen nicht mehr geeignet. Frische Konserven konnten infolge der Schwierigkeiten der Beschaffung in der Blutbank nicht verwendet werden. Dem Blut wurden 300 ml Dextranlösung (Neosubsidal) zugesetzt.

Bei den autologen Perfusionen wurde das Blut wie oben beschrieben während der Operation entnommen, bei den homologen Perfusionen gewannen wir das notwendige Blut anfangs von etwa 1 1/2 - 2 Zentner schweren Hausschweinen, später von Zwergschweinen, wie sie uns auch als Leberspender dienten. Diesen Tieren wurde mit einer mit heparinfreiem ACD-Stabilisator präparierten Vakuumflasche das Blut durch Punktion der

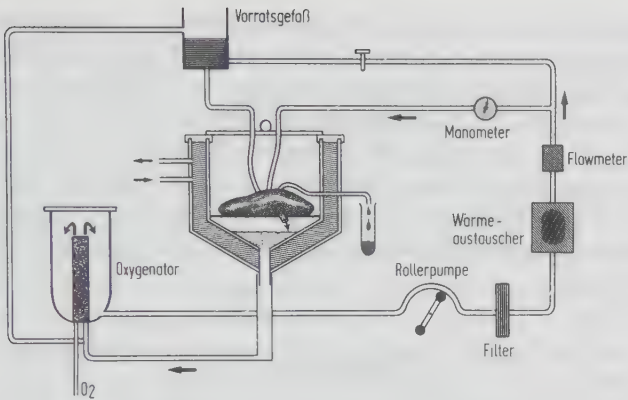


Abb. 1. Schema des Perfusionskreislaufes bei den experimentellen Schweineleberperfusionen

v. jugularis entnommen. Im Mittel betrug die Menge 1000 ml.

Zu erwähnen ist noch, daß nicht nur die Operation an sich, sondern auch die Kaltspülung und die Perfusion steril vorgenommen wurden. Zusätzlich wurde dem Kreislauf ein Antibiotikum (0,5 g Binotal) zugesetzt). Zur pH-Einstellung wurde nach vorhergehender Messung mit Natriumbikarbonat gepuffert.

Die Dauer der einzelnen Perfusionen betrug 3 - 4 Stunden.

5. Klinische Anwendung der Perfusion

Bei einem Patienten mit einem Leberkoma wurde die Schweineleberperfusion zweimal klinisch angewendet. Es handelte sich um einen 29jährigen Patienten (P.A.), bei dem wahrscheinlich ein toxisches Leberversagen nach Mitral-Klappenersatz vorlag. Insgesamt wurde er dreimal perfundiert, wobei jedoch die erste Perfusion abgebrochen werden mußte, da es

unmöglich war, infolge von Thrombenbildung in den Armvenen des Patienten auch nur einen geringen Flow aufrechtzuerhalten. Der Patient erwachte nach der 3. Perfusion aus dem Koma, verstarb jedoch fünf Tage danach an Urämie.

Die Leber wurde nach der oben beschriebenen Operationsmethode dem Spendertier entnommen, blutfrei gespült und an den Perfusionskreislauf angeschlossen, der jedoch gewisse Änderungen gegenüber den übrigen Perfusionen aufwies (Abb. 2).

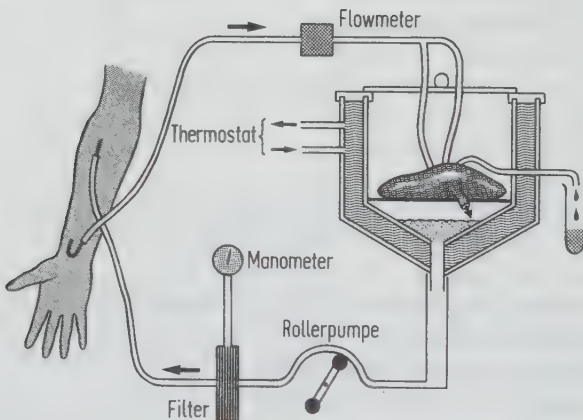


Abb. 2. Schema des Perfusionskreislaufes bei der Patientenperfusion

Zuerst wurden wie bei einem Scribner - Shunt die a. radialis und eine Armvene freipräpariert, kanüliert und anschließend steril mit dem Perfusionssystem verbunden. Hier konnte das Blutreservoir wegfallen, dessen Rolle der Patient übernahm. Das ganze System wurde vor Perfusionbeginn mit 500 ml gruppengleichen Konservenbluts und 500 ml Dextranlösung (Neosubsidal) luftblasenfrei gefüllt. Im Ver-

lauf der Perfusion wurde auch die Geschwindigkeit der Pumpe derart gesteuert, daß sich stets etwa die gleiche Blutmenge wie zu Anfang im Perfusionssystem befand und somit keine Veränderungen in der Volumenmenge im Patientenkörper auftraten. Alles andere wurde, wie beschrieben, beibehalten.

Der Patient wurde nun mit der Arterie an die a. hepatica und den Pfortaderstumpf angeschlossen. Der Rückfluß aus der Schweineleber wurde von der Pumpe in die Armvene des Patienten gefördert. Der gesamte Blutfluß durch die Leber schwankte dabei um 300 ml pro Minute.

Der Gefahr von Thrombosenbildungen begegneten wir durch Verabreichung von Heparin (Liquemin), das mit einem Dauerinfusionsgerät Perfusor (Braun, Melsungen) konstant gegeben wurde. Es handelte sich dabei um eine regionale Heparinisierung. Die Blutgerinnungszeit wurde ständig kontrolliert. Zur Kompensierung des Heparins gaben wir bei Bedarf Protamin, ebenfalls mit einer Automatspritze. Das Heparin wurde dabei dem arteriellen, das Protamin dem venösen Schenkel des Perfusionskreislaufes beigelegt. Die Blutgerinnungszeit schwankte zwischen 4 - 9 Minuten.

6. Vergiftung mit Allylformiat und Tetrachlorkohlenstoff. Ischämien

Bei den Vergiftungen wurde zwischen Sauerstoffflasche und Oxygenator eine Waschflasche mit dem jeweiligen Gift eingeschaltet. Der Sauerstoff perlte darin durch diese leicht flüchtigen Substanzen, so daß ein Sauerstoff-Gift-Gemisch dem Oxygenator zugeführt wurde. Die zugeführte Sauerstoffmenge von 2 Litern pro Minute blieb unverändert.

Bei der Ischämie wurde durch Abschalten der Pumpe der Blutfluß unterbrochen. Die Lebertemperatur blieb dabei auf 37° C ("warme Ischämiezeit").

7. Bestimmung von pH, Sauerstoffpartialdruck und Sauerstoffsättigung im arteriellen und venösen Blut

Zur Bestimmung des pH und des Sauerstoffpartialdrucks (pO_2) wurde das Astrup-Mikro-Gerät AME 1 verwendet, das eine einfache und genaue Möglichkeit zur Messung nicht nur dieser Größen, sondern auch des pCO_2 , des Standard-Bikarbonats, des Basen-Überschusses und der Pufferbasen bietet. Von diesen Größen interessierten allerdings nur der pCO_2 und der Basen-Überschuß, durch deren laufende Kontrolle ein Azidose oder Alkalose verhindert wurde.

Zur Bestimmung dieser Werte wurde am arteriellen Schenkel (zwischen Oxygenator und Perfusionskammer) und am venösen Schenkel (zwischen Leber und Oxygenator) des Systems Vollblut entnommen. Dies geschah mit heparinisierten Kapillarröhrchen mit einem Fassungsvermögen von 60 l. Den Kapillarröhrchen wurde ein Eisenstäbchen zugesetzt, das mit einem Magneten zur besseren Durchmischung des Blutes mehrmals bewegt wurde. Dann wurden die Röhrchen an beiden Seiten luftdicht verschlossen.

Der aktuelle pH wurde am AME 1 gemessen, indem das Blut aus dem Röhrchen luftblasenfrei in die thermostatisierte Glaselektrode des Geräts gegeben wurde. Als Gegenelektrode diente eine Kalomelelektrode. Der Meßwert konnte direkt am AME 1 abgelesen werden.

Zur Bestimmung des pO_2 wurde das Blut luftblasenfrei in die pO_2 -Elektrode gesaugt, die nach dem täglichen Barometerstand geeicht wurde. Auch der pO_2 konnte direkt abgelesen werden.

Zur Ausschaltung möglicher Fehlerquellen wurden die Röhrchen sofort luftdicht verschlossen, schnellstens zur Messung weitergereicht oder, wenn dies unmöglich war, kühl gelagert. Im letzteren Fall wurden die Proben spätestens zwei Stunden später ausgewertet.

Die Sauerstoffsättigung (SO_2) wurde mit einem Meßgerät

vom Typ OSM 1 ermittelt. Das zur Messung erforderliche Blutvolumen betrug 50 l; es wurde nach der oben beschriebenen Weise dem System entnommen. Die gefüllte und verschlossene Kapillare wurde zentrifugiert, um die Erythrozyten vom Plasma zu trennen. Durch plötzliches Unterkühlen in einer Kältemischung von -15°C und anschließendes Auftauen wurden die Erythrozyten hämolysiert. In einer Küvette wurde dann die optische Dichte der Probe bei rotem Licht (598 nm) und bei grünem Licht (505 nm) gemessen. Im Nomogramm konnte dann der den beiden optischen Dichten entsprechende Sauerstoffsättigungsgrad direkt in % abgelesen werden.

8. Herstellung der histologischen Präparate

Während der Perfusion wurden der Leber zu verschiedenen Zeiten Gewebeproben entnommen, die teilweise dem Leberzentrum nahe der Einmündung der Lebergefäße, teilweise auch der Leberperipherie entstammten.

Bei den heterologen, homologen und autologen Perfusionen wurden die Proben zur 2., 3., 4. und 5. Stunde nach Perforationsbeginn jeweils aus Zentrum und Peripherie entnommen. Da man in allen Lappen der Leber die gleiche Struktur und eine verhältnismäßig egale Verteilung von Glykogen annehmen kann (23, 26, 36), wurde nicht auf die strenge Einhaltung der Entnahme der Proben von nur einem Lappen geachtet. Ebenso wurde bei den Ischämien verfahren. Bei den Vergiftungen wurden die Proben eine und zwei Stunden nach Vergiftung wie oben entnommen. Außerdem wurden noch Proben nach Kaltspülung der Leber und während der Operation in situ verfertigt. Zur Vermeidung einer allzu großen Leberschädigung waren die Proben nur erbsen- bis pfenniggroß und wurden mit einem scharfen Skalpell aus der Leber gelöst. Dabei gingen wir stets steril vor.

a. HE-Färbung

Die Stücke, welche mit Hämalaun-Eosin gefärbt werden

sollten, wurden sofort in 1 : 8 verdünntes Formol gelegt. Zur besseren Fixation wurden die Proben zwei Tage in dieser Lösung aufbewahrt. Dannach wurde ihnen mit einem Autotechnicon Modell 2 A das Wasser entzogen. Die Stücke durchliefen dabei verschiedene Lösungen im Zeitraum von 18 Stunden: Formalin - 70 %iger Alkohol - 96 %iger Alkohol - Äthanol - Benzol - Paraplast.

Danach wurden die Proben in Paraffinblöcke eingegossen, geschnitten und entparaffiniert.

Im Shandon-Elliott-Objektträgerfärbeautomat durchliefen die fertigen Schnitte 23 Färbestationen von einer absteigenden Alkoholreihe über ein Hämalanbad, eine Eosinlösung, eine aufsteigende Alkoholreihe bis in eine Xylollösung. Damit war der Färbevorgang beendet und nach Eindeckung konnten die Proben ausgewertet werden.

b. Glykogenfärbung nach BEST

Hier wurden die Proben in einer aus drei Teilen absoluten Alkohols und einem Teil konzentrierten Handelsformols bestehenden Lösung 24 Stunden lang fixiert. Danach durchliefen sie zur Entwässerung das Autotechnicon von der Stufe des 96 %igen Alkohols an bis zum Paraplasten.

Nach diesem Durchgang wurden die Schnitte wie bei der HE-Färbung angefertigt.

Im Handfärbeverfahren wurden die Schnitte zuerst entparaffiniert, dann in Hämalan gefärbt. Es folgte darauf ein 20 minütiges Bläuen in Wasser, um den Farbstoff abzuspülen. Dann wurden sie in Karminfarblösung 18 Minuten lang eingefärbt. Es folgten die Durchgänge durch eine Differenzierungs-lösung, dann durch eine aufsteigende Alkoholreihe und schließlich das Bad in Carbolxylol.

Nun konnten die Präparate eingedeckt werden und standen zur Auswertung bereit.

C. Ergebnisse
=====

1. Gasanalysen

Zur Beurteilung der Funktionsfähigkeit der Schweineleber wurden pO_2 und SO_2 des arteriellen und venösen Blutes in Abständen von 1/2 Stunde gemessen. Mit Hilfe der Sauerstoffsättigung, des jeweiligen Flows und des Hb-Gehalts des Blutes wurde der Sauerstoffverbrauch der Schweineleber als Maß der Funktion des perfundierten Organs errechnet. Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen:

I. Berechnung der Sauerstoffdurchflußmenge in ml pro Minute im arteriellen Schenkel

Einer Sauerstoffsättigung von 100 % entsprechen ein Gesamt-Hb von 100 % Hb und eine Sauerstoffmenge von 21 ml pro 100 ml Blut

$$\begin{aligned} Hb_G & : Hb_E = O_{2A} : S \\ S & = \frac{Hb_E \times O_{2A}}{Hb_G} \\ D_1 & = S \times F \end{aligned}$$

II. Berechnung der Sauerstoffdurchflußmenge in ml pro Minute im venösen Schenkel

$$\begin{aligned} SO_{2A} & : SO_{2G} = O_{2A} : a \\ a & = \frac{SO_{2A} \times O_{2A}}{SO_{2A}} \\ Hb_G & : Hb_E = a : S \\ S & = \frac{Hb_E \times a}{Hb_G} \\ D_2 & = S \times F \end{aligned}$$

III. Berechnung des Sauerstoffverbrauchs der Leber

$$(D_1 - D_2) : L = V$$

Zeichenerklärung:

Hb _G	=	Gesamthämoglobin (%)
Hb _E	=	gemessenes Einzelhämoglobin (%)
O _{2A}	=	Sauerstoffmenge, die einem Gesamt-Hb von 100 % entspricht (ml O ₂ /100 ml Blut)
SO _{2A}	=	absolute Sauerstoffsättigung, die einem Gesamt-Hb von 100 % entspricht (%)
SO _{2G}	=	gemessene Sauerstoffsättigung (%)
a	=	Sauerstoffmenge, die der gemessenen Sauerstoffsättigung entspricht (ml O ₂ /100 ml Blut)
S	=	Sauerstoffmenge, die dem gemessenen Hb-Wert entspricht (ml O ₂ /100 ml Blut)
F	=	gemessener Flow (ml/min)
D	=	Durchflußmenge O ₂ bei einem Flow F (ml O ₂ /min)
L	=	Lebergewicht (g)
V	=	Sauerstoffverbrauch (ml O ₂ /min x g Lebergew.)

a. Heterologe, homologe und autologe Perfusionen

Da sich die Werte der Gasanalysen der heterologen, homologen und autologen Perfusionen nicht wesentlich voneinander unterscheiden, konnten diese drei Perfusionsarten unter dem Begriff "Normalperfusionen" zusammengefaßt werden.

Beim Sauerstoffverbrauch konnte bis zur vierten Stunde der Perfusion kein signifikanter Abfall festgestellt werden. Die Kurve ergab zwar starke Schwankungen um eine theoretische lineare Mittellinie, jedoch waren auch zwischen den in Abständen von einer halben Stunde gemessenen Werten keine signifikanten Unterschiede festzustellen ($p > 0,05$). Diese Tatsache dürfte zu der Annahme berechtigen, daß die Leber bis zur vierten Stunde nach Perfusionsbeginn noch ausreichend funktionsfähig war (Abb. 3; Tab. 1).

Der arterielle pO_2 fiel bei ungefähr gleichbleibendem venösen pO_2 innerhalb der ersten Stunde ab. Danach stieg er zwar wieder, jedoch nur verhältnismäßig gering. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht ermittelt werden ($p > 0,05$). Erklären ließe sich der Abfall im arteriellen Blut vielleicht durch die gleichzeitig beobachtete Abnahme der Erythrozyten durch Gerinnung in der Leber oder mechanische Zerstörung (Abb. 3; Tab. 1).

Die Kurve der Sauerstoffsättigungswerte zeigte ebenfalls wie die des Sauerstoffverbrauchs im venösen Blut nach Ausschöpfung durch die Leber große Schwankungen, die jedoch nicht signifikant voneinander verschieden sind ($p > 0,05$). Im großen und ganzen bewegten sie sich in etwa um eine gedachte Mittellinie. Die Werte im arteriellen Schenkel blieben fast konstant 100 %. Somit würde durch diese Werte die Annahme einer ziemlich gleichbleibenden Funktion der Leber unterstützt, wobei die Schwankungen durch die biologische Variationsbreite und die geringe Anzahl der Einzelmessungen gegeben sein dürften (Abb. 3; Tab. 1).

Der pH blieb während der Perfusion im Normbereich.

b. Ischämien

Bei den Perfusionen, bei denen wir die O_2 -Versorgung 30 Minuten unterbrachen, zeigte sich, daß der Sauerstoffverbrauch, der der Norm entsprach, während der Ischämie erwartungsgemäß absank, um dann nach Wiedereinschaltung des

Blutkreislaufes auf die alte Höhe zurückzukehren. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten vor und nach Ischämie konnte nicht festgestellt werden ($p > 0,05$).

Entsprechend verhielten sich auch die Werte der Sauerstoffsättigung

Der pO_2 , dessen arterio-venöse Differenz vor Ischämiebeginn ausreichend und normal groß war, sank im arteriellen Schenkel im Zeitraum der Ischämie sehr stark ab, im venösen Schenkel dagegen nur gering. Nach Wiederaufnahme der Perfusion normalisierten sich die Verhältnisse wieder. Ein signifikanter Unterschied konnte nicht nachgewiesen werden ($p > 0,05$). Man kann also aus diesen und den vorhergehenden Werten auf eine ausreichende Funktion der Leber sowohl vor als auch nach Ischämie schließen (siehe dazu Abb. 4; Tab. 2).

Der pH-Wert blieb während der Perfusionen und auch während der Ischämie ziemlich normal.

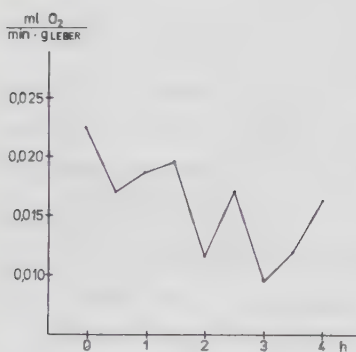
c. Vergiftung mit Allylformiat

Die Sauerstoffsättigung betrug zu Beginn der Perfusion und nach der ersten Stunde im arteriellen Blut 100 %. Nach der Vergiftung sank die Sättigung bis auf 90 %. Im venösen Schenkel waren die Schwankungen der Sauerstoffsättigung größer. Es konnte eine Zunahme auf über 90 % nach Vergiftung verzeichnet werden. Die arterio-venöse Differenz sank beträchtlich nach Vergiftung, was als Zeichen für einen verminderten Sauerstoffverbrauch der Leber gewertet werden kann.

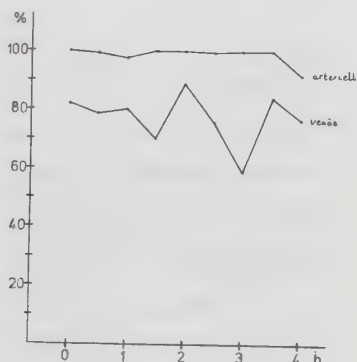
Die Kurve des Sauerstoffverbrauchs bestätigte diese oben genannten Werte. Nach der Vergiftung sank der Sauerstoffverbrauch sehr stark. Ein signifikanter Unterschied konnte jedoch nicht errechnet werden, was vielleicht durch die geringe Anzahl der Werte zu erklären ist ($p > 0,05$).

Der pO_2 , dessen große arterio-venöse Differenz von einem zufriedenstellenden Sauerstoffverbrauch zeugte, stieg nach Vergiftung so an, daß die arterio-venöse Differenz verringert wurde. Eine Stunde nach Vergiftung hatte sich diese Ver-

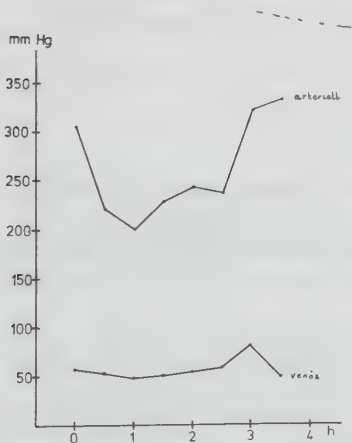
SAUERSTOFFVERBRAUCH BEI HETEROLOGEN,
HOMOLOGEN UND AUTOLOGEN PERFUSIONEN



O₂-SÄTTIGUNG BEI HETEROLOGEN, HOMOLOGEN
UND AUTOLOGEN PERFUSIONEN



O₂-PARTIALDRUCK BEI HETEROLOGEN, HOMOLOGEN
UND AUTOLOGEN PERFUSIONEN



pH-WERTE BEI HETEROLOGEN, HOMOLOGEN UND
AUTOLOGEN PERFUSIONEN

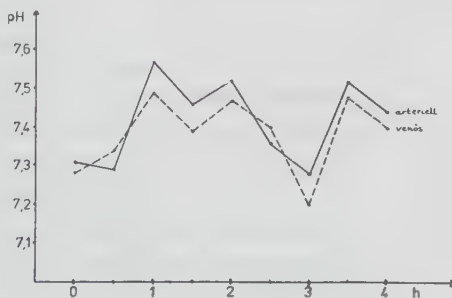


Abb. 3. Sauerstoffverbrauch, Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck und pH bei heterologen, homologen und autologen Perfusionen

Tab. 1. Ergebnisse der heterologen, homologen und autologen Perfusionen

t (h nach P.- Beginn)	O ₂ -Verbrauch (ml O ₂ /min x g Leb.)			pO ₂ (mm Hg)		
	-----			-----		
		n	a	v	n	
0	0,0225	2	305	57	2	
1/2	0,0170	9	221,2	53,9	11	
1	0,0186	5	201	48,4	5	
1 1/2	0,0196	8	228,5	50,6	9	
2	0,0114	5	244,7	54	5	
2 1/2	0,0170	9	239,6	58	10	
3	0,0095	2	323,3	80	3	
3 1/2	0,0119	4	333,7	49,7	4	
4	0,0163	2	52	34	1	

	O ₂ -Sättigung (%)			pH		
	-----			-----		
	a	v	n	a	v	n
0	100	82,1	2	7,31	7,28	2
1/2	99,3	78,2	11	7,29	7,34	10
1	97,8	80,1	5	7,57	7,49	5
1 1/2	100	70,4	9	7,46	7,39	9
2	100	89,1	5	7,52	7,47	5
2 1/2	99,7	75,8	10	7,36	7,40	9
3	100	59,1	3	7,28	7,20	3
3 1/2	100	84,3	4	7,52	7,48	4
4	92,2	77	2	7,44	7,40	2

Tab. 2. Ergebnisse bei Perfusionen mit Ischämie (30 min)

t (h nach P.- Beginn)	O ₂ -Verbrauch (ml O ₂ /min x g Leb.)			pO ₂ (mm Hg)		
	-----			-----		
		n	a	v	n	
3/4	0,0205	3	226,6	50,6	3	
1 1/4	0,0087	1	18,0	17,0	1	
1 3/4	0,0214	3	215,6	50,0	3	
2 1/4	0,0159	3	296,6	51,3	3	

O ₂ -Sättigung (%)				pH		
-----				-----		
	a	v	n	a	v	n
3/4	100	84,6	3	7,33	7,36	3
1 1/4	13	7,0	1	7,26	7,24	1
1 3/4	100	78,1	3	7,30	7,25	3
2 1/4	100	69,6	3	7,38	7,34	3

kleinerung jedoch wieder aufgehoben.

Auch der pH sank sowohl im arteriellen als auch im venösen Schenkel nach Vergiftung unter 6,6, in nicht mehr meßbare Bereiche (s. dazu Abb. 5; Tab. 3).

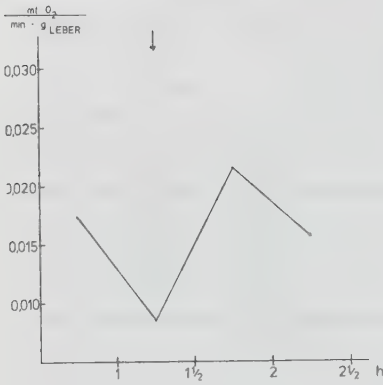
d. Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff

Im arteriellen Blut blieb die Sauerstoffsättigung auch nach Vergiftung weiter konstant. Diejenige des venösen Schenkels stieg nach Vergiftung von 83,1 auf über 90 % an. Der Anstieg war nicht signifikant, was wahrscheinlich aus der geringen Anzahl der Werte resultierte.

Der Sauerstoffverbrauch sank nach Vergiftung, was sich mit den Beobachtungen an der Sauerstoffsättigung deckt. Die

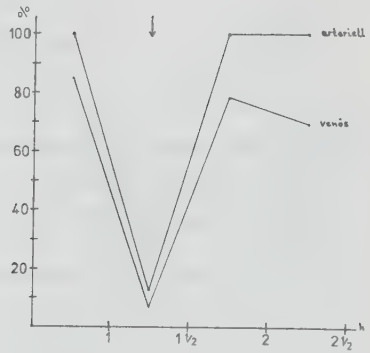
SAUERSTOFFVERBRAUCH BEI VERSUCHEN

MIT JSCHÄMIE (↓)



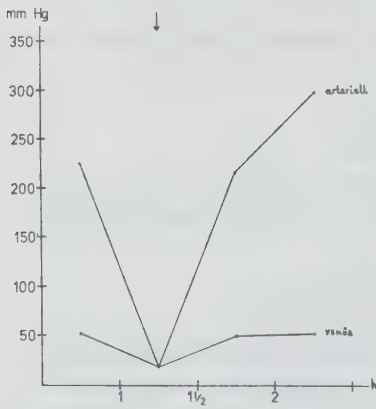
O_2 -SÄTTIGUNG BEI VERSUCHEN

MIT JSCHÄMIE (↓)



O_2 -PARTIALDRUCK BEI VERSUCHEN

MIT JSCHÄMIE (↓)



pH-WERTE BEI PERFUSIONEN MIT JSCHÄMIE (↓)

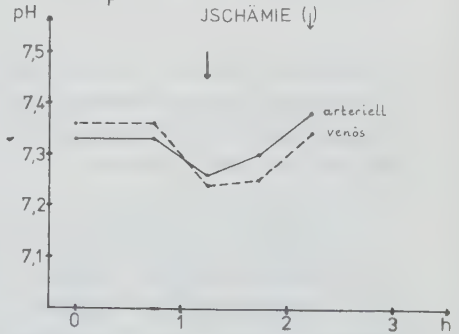


Abb. 4. Sauerstoffverbrauch, Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck und pH bei Versuchen mit Ischämie.

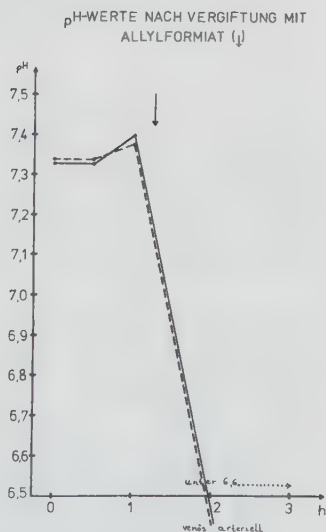
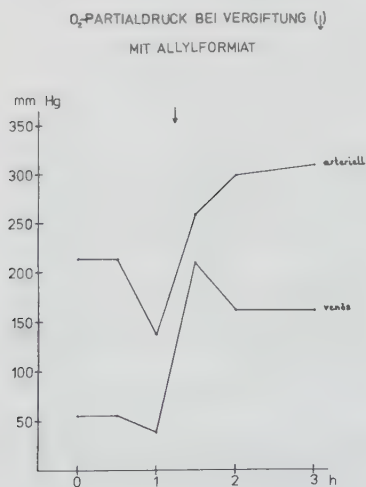
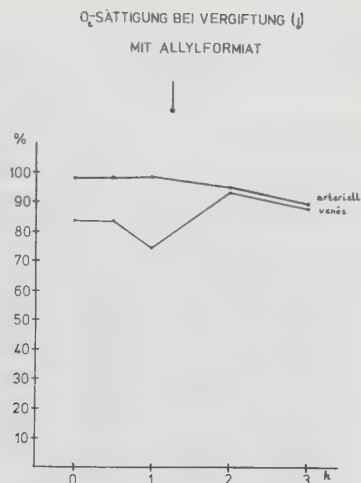
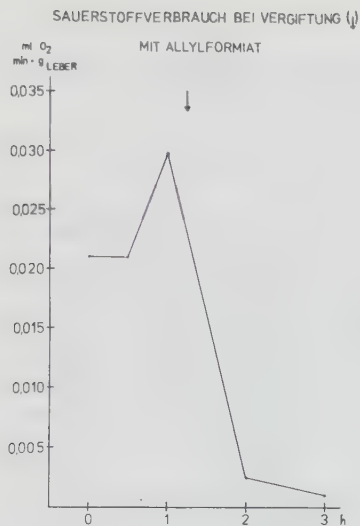


Abb. 5. Sauerstoffverbrauch, Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck und pH bei Vergiftung mit Allylformiat.

Tab. 3. Ergebnisse bei Vergiftung mit Allylformiat
(Vergiftungsdauer 5 - 10 min)

t (h nach P.- Beginn)	O ₂ -Verbrauch			O ₂ -Sättigung		
	(ml O ₂ /min x g Leb.)			(%)		
		n	a	v	n	
1/2	0,0210	2	98,2	83,3	2	
1	0,0298	2	98,4	74,3	2	
2	0,0025	1	95,3	93,2	1	
3	0,0010	1	90,0	88,1	1	

	pO ₂			pH		
	(mm Hg)					
	a	v	n	a	v	n
1/2	214	55	2	7,33	7,34	2
1	137	39	2	7,40	7,38	2
1 1/2	260	210	1			
2	300	162	1	unter 6,6		1
3	310	162	1	unter 6,6		1

Abnahme erfolgte jedoch nicht so rapide wie nach Vergiftung mit Allylformiat. Ein signifikanter Unterschied konnte auch hier nicht nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

Der pO₂ betrug zu Beginn der Perfusion 202,6 mm Hg im arteriellen Blut und stieg noch in der ersten Stunde auf fast 350 mm Hg. Diese hohe arterio-venöse Differenz verringerte sich nach Vergiftung, was den Schluß auf eine Störung der Stoffwechselvorgänge in der Leber nahelegt.

Auch der pH, der etwa zwischen 7,2 und 7,3 pendelte, zeigte ein ziemlich konstantes Verhalten trotz Vergiftung (s. dazu Abb. 6; Tab. 4).

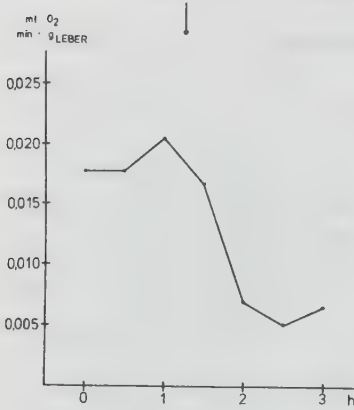
Tab. 4. Ergebnisse nach Vergiftung mit Tetrachlor-
kohlenstoff (Vergiftungsdauer 4 - 15 min)

t (h nach P.- Beginn)	O ₂ -Verbrauch (ml O ₂ /min x g Leb.)			pO ₂ (mm Hg)		
	-----			-----		
		n	a	v	n	
1/2	0,0177	3	202,6	49,0	3	
1	0,2030	2	350,0	43,5	2	
1 1/2	0,0166	2	370,0	52,0	2	
2	0,0070	1	300,0	56,0	1	
2 1/2	0,0052	1	320,0	76,0	1	
3	0,0066	1	290,0	76,0	1	

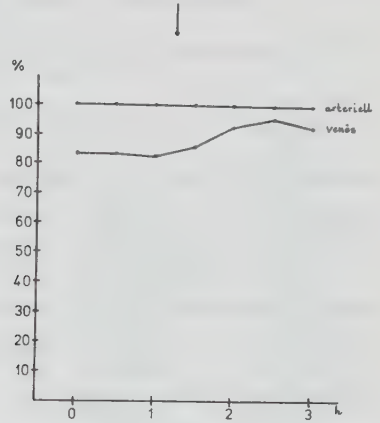
	O ₂ -Sättigung (%)			pH		
	-----			-----		
	a	v	n	a	v	n
1/2	100	83,1	3	7,16	7,15	4
1	100	82,3	2	7,18	7,18	2
1 1/2	100	86,0	2	7,27	7,24	1
2	100	93,2	1	7,28	7,28	1
2 1/2	100	95,8	1	7,31	7,27	1
3	100	93,0	1	7,29	7,26	1

Zu bemerken wäre noch, daß die unterschiedliche Zeit-
dauer der Vergiftungen qualitativ nicht zu unterschied-
lichen Ergebnissen führte, so daß die Versuche zusammenge-
faßt werden konnten.

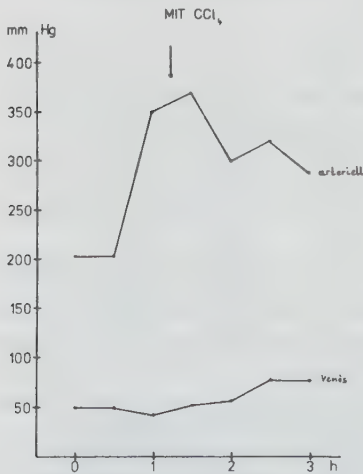
SAUERSTOFFVERBRAUCH NACH VERGIFTUNG (j)
MIT CCl_4



O_2 -SÄTTIGUNG NACH VERGIFTUNG (j)
MIT CCl_4



O_2 -PARTIALDRUCK NACH VERGIFTUNG (j)



pH-WERTE NACH VERGIFTUNG MIT CCl_4 (j)

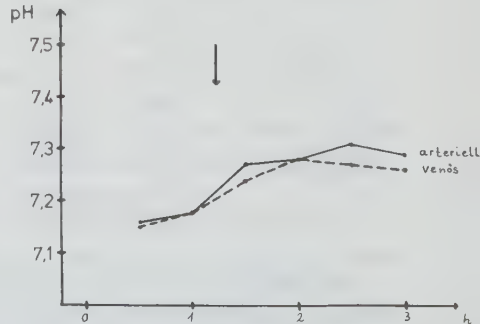


Abb. 6. Sauerstoffverbrauch, Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck und pH nach Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff.

e. Klinische Perfusion am Patienten

Bei den beiden klinischen Perfusionen von 3 1/2 Stunden Dauer blieb die arterielle Sauerstoffsättigung ziemlich konstant auf 100 %. Bei den venösen Werten zeigte sich ein Anstieg, eine Folge des abnehmenden Sauerstoffverbrauchs der Leber.

Unterstützt wurde diese Tatsache durch den errechneten Sauerstoffverbrauch, der eine fallende Tendenz zeigte.

Auch der pO_2 zeigte eine Verringerung der arterio-venösen Differenz, hauptsächlich verursacht durch einen Abfall des arteriellen pO_2 , der wahrscheinlich schon im Patienten reduziert wurde (s. dazu Abb. 7; Tab. 5).

Tab. 5. Ergebnisse der klinischen Perfusionen

t (h nach P.- Beginn)		1/2	1 1/2	2 1/2	3 1/2
O_2 -Verbrauch (ml O_2 /min x g Leb.)		0,028	0,021	0,026	0,0085
pO_2 (mm Hg)	a	88	97	69	70
	v	34	36	42	50
O_2 -Sättigung (%)	a	99,5	100,0	93,5	95,3
	v	55,2	70,6	63,7	82,3

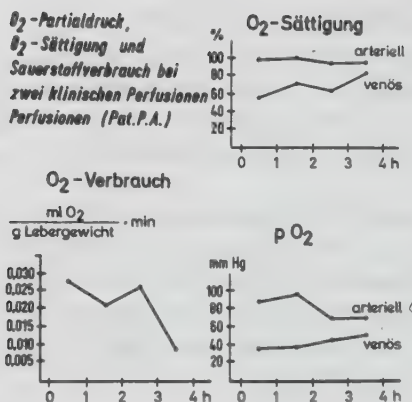


Abb. 7. Sauerstoffverbrauch, Sauerstoffsättigung und Sauerstoffpartialdruck bei klinischen Perfusionen

2. Histologische Ergebnisse

a. Heterologe, homologe und autologe Perfusionen

Die ersten Veränderungen in der Leber zeigten sich nach Durchspülung des Organs mit NaCl-Lösung. In sechs Fällen, in denen Probeexcisionen gemacht wurden, konnte jedesmal eine mäßige bis starke Erweiterung der Sinusoide beobachtet werden. Diese Erweiterung nahm ihren Ursprung in der Gegend der Zentralvene und breitete sich von hier aus ziemlich gleichmäßig im ganzen Läppchen aus. Eine Schädigung der Zellen konnte nicht festgestellt werden. Auch spielte es keine Rolle, ob die Probestückchen dem Leberzentrum oder der Leberperipherie entstammten. (s. Abb. 8)

Auch zwei Stunden nach Beginn der Perfusion bot die Leber noch keine oder nur geringe Schädigungen. In zwei Fällen zeigte sich ein durchaus normales Leberbild. In diesen Fällen war die Probe dem Leberzentrum entnommen worden. In zwei

weiteren Proben aus dem Leberzentrum ergab sich das Bild einer mäßigen Infiltration von Erythrozyten in das umliegende Parenchym, welche vom zentralen Läppchenteil ausging. Dabei konnten auch in den Trabekeln geringe Erythrozytenansammlungen festgestellt werden. Nur in einem Fall kam es zu einer sehr starken Erythrozytenansammlung, wobei allerdings die Leber bereits in situ ein stark verändertes histologisches Bild mit erweiterten Sinusoiden bot.

Die Veränderung der Leber drei Stunden nach Perfusionsbeginn wurden in insgesamt neun Fällen beobachtet. In fünf davon kam es zu mäßigen bis stärkeren Erythrozyteninfiltrationen ins Parenchym, die bereits stärker waren als nach zwei Stunden Perfusion. Teilweise waren nur einzelne Läppchen mäßig betroffen, während andere ziemlich gut erhalten waren und in ihrem Zellzusammenhalt unberührt waren. Eine sinusoidale Erweiterung trat auch hier auf. In einem dieser fünf Präparate waren neben gut erhaltenen Läppchen in einzelnen Lobuli so starke Erythrozytenansammlungen, vom Zentrum ausgehend, daß man bereits von "Blutseen" sprechen konnte. Das Parenchym war jedoch auch hier gut erhalten. Vier dieser Proben - die letzterwähnte eingeschlossen - stammten aus dem Leberzentrum, eine aus der Peripherie.

In den anderen vier Fällen kam es zu schwereren Schädigungen. Hier kamen drei Proben aus dem Leberzentrum und eine aus der Peripherie. Bei noch erhaltenen Läppchengrenzen kam es zu einer stärkeren bis massiven Parenchymauflösung mit starken Erythrozytenansammlungen. Diese befanden sich hauptsächlich im Läppchenzentrum, nur in einem Fall waren die Trabekel auch teilweise erfaßt.

Nach vier Stunden waren die Veränderungen noch ausgeprägter. Insgesamt wurden 16 Fälle ausgewertet. In sechs davon - fünf entstammten dem Zentrum, einer der Peripherie - konnte eine Gewebsauflockerung, sinusoidale Erweiterung und Erythrozytenansammlung beobachtet werden. In einem Präparat war auch eine starke Erythrozyteninfiltration in das Bindegewebe der

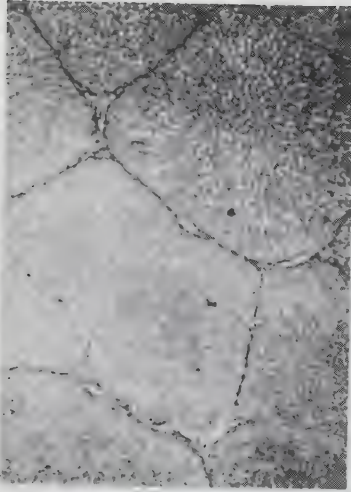
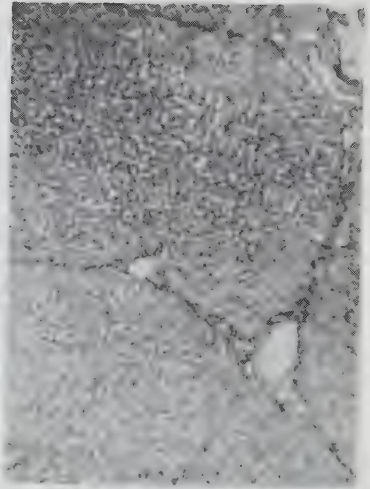
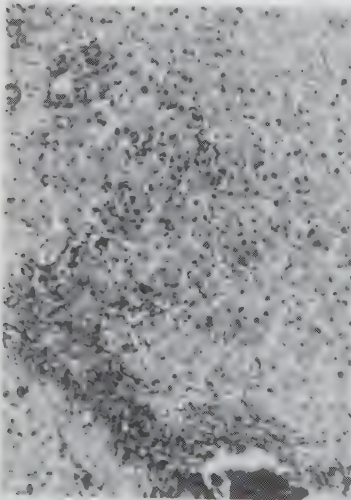


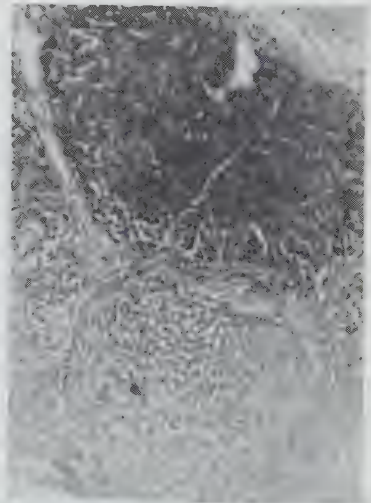
Bild der normalen Leber



Leber nach Kaltspülung



Leber nach Perfusion.
Erythrozyten in Trabekeln.



Leber nach Perfusion. "Blut-
seen" bei noch gut erhaltenem
Parenchym.

Abb. 8. Leber in HE-Färbung bei heterologer, homologer und autologer Perfusion

Trabekel zu sehen. Meist waren die Infiltrate jedoch in der Gegend der Läppchenzentren zu sehen.

In den anderen 10 Fällen kam es zu massiven Erythrozytenansammlungen, fast schon richtigen "Blutseen" - in einer Probe war das Parenchym neben riesigen Erythrozytenanhäufungen nur noch in Gestalt vereinzelter Zellen sichtbar. Das Parenchym war sonst stark aufgelockert und ohne Zusammenhalt. In sechs Fällen waren starke Erythrozytenmengen in den Trabekeln zu finden. Diese Proben waren viermal der Peripherie und zweimal dem Zentrum an Stellen, die bereits im makroskopischen Anblick ödematös aussahen, entnommen. Insgesamt stammten fünf Proben aus der Peripherie, drei aus einem bereits ödematösen Zentrum und nur zwei aus einem makroskopisch besser erhaltenen Zentrum (s. Abb. 8).

Das Glykogen, das ein noch viel feinerer Indikator für Veränderungen und Störungen des Leberstoffwechsels und -parenchyms ist, zeigte noch deutlichere Veränderungen als das normale HE-Präparat.

Nach der Kaltspülung konnte in fünf Fällen keine oder nur eine mäßige Abnahme des Glykogen gegenüber den Proben in situ festgestellt werden. Eine Bevorzugung eines Läppchenteils konnte nicht festgestellt werden, vielmehr erstreckte sich der Glykogenschwund über das ganze Läppchen ziemlich gleichmäßig. Nur in einem Fall könnte man vielleicht von einer stärkeren Glykogenreduzierung von der Peripherie her sprechen.

Nach einer Stunde nach Perfusionsbeginn wurde eine Probe entnommen, welche dem Leberzentrum entstammte. Hier konnte kein Glykogenschwund festgestellt werden.

Nach zwei Stunden Perfusionsdauer kam es sowohl in der Leberperipherie wie auch im Leberzentrum zu einer Glykogenabnahme. Diese war teils scharf begrenzt, teils diffus, war jedoch nicht an gewisse Läppchengebiete gebunden. In drei Fällen aus dem Zentrum kam es zu einer Glykogenreduzierung, in zwei Fällen konnte kein Abfall festgestellt werden. Bei

zwei anderen Proben, die der Leberperipherie entnommen wurden, kam es zu einer Glykogenabnahme. Der Vergleich zweier Proben aus einer Leber ergab, daß die Glykogenabnahme im Zentrum etwas stärker war als in der Peripherie.

Nach einer Perfusionszeit von drei Stunden zeigten sich, verschieden nach der Art des makroskopischen Zustands der Leber, Veränderungen im Glykogengehalt, welche die vor einer Stunde noch übertrafen. Insgesamt wurden neun Proben dem Zentrum und drei der Peripherie entnommen. Bei zwei der Präparate aus dem Zentrum ergab sich eine starke Glykogenabnahme. Beide Stücke stammten aus einem Gebiet, das makroskopisch bereits ödematös wirkte. In den anderen sieben Fällen zeigte sich bei einem Stück eine geringgradige, bei einem anderen Präparat eine starke und beim Rest eine mäßige Glykogenabnahme. Auch in den drei der Peripherie entnommenen Fällen kam es zu einem Abfall. Bei dem Vergleich zwischen Zentrum und Peripherie ergab sich in zwei Fällen eine stärkere Abnahme im Zentrum, bei einer Probe konnte kein Unterschied festgestellt werden.

Nach vierstündiger Perfusion kam es zu einem gleichmäßigen Glykogenschwund sowohl in der Peripherie als auch im Zentrum. Anscheinend griff jetzt die Leber auf die peripheren Glykogenreserven zurück. Dem Zentrum wurden neun Proben entnommen. Zwei Fälle wiesen eine starke, zwei Fälle keine und fünf Proben eine mäßige bis deutliche Reduzierung auf. Von den drei Proben aus der Peripherie ergab eine einen starken, zwei zeigten einen mäßigen bis deutlichen Glykogenschwund. Bei dem Vergleich zwischen Peripherie und Zentrum zeigte sich in einem Fall eine verstärkte Abnahme im Zentrum, in einem zweiten Fall war die Abnahme im Zentrum geringer und im dritten Fall konnte kein Unterschied festgestellt werden (s. Abb. 9).

Insgesamt kam es während der Perfusion zu einer Reduzierung des Glykogengehalts, ohne daß man zwischen Läppchenperipherie und -zentrum differenzieren konnte.

b. Ischämien

Die histologischen Veränderungen nach Ischämie im HE-Präparat ergaben trotz verschiedener Ischämiezeiten keine wesentlichen Unterschiede untereinander. In einem Fall wurden zwei Proben aus dem Zentrum entnommen. Beide zeigten ein normales Bild, welches dem der Normalperfusion nach drei Stunden entsprach. Auch im zweiten Fall, in dem die Probe zwei Stunden nach Ischämie und 4 1/4 Stunden nach Perfusionsbeginn dem Leberzentrum entnommen worden war, zeigten sich in dem aufgelockerten Parenchym und den diffusen Erythrozytenansammlungen, die auch in den Trabekeln vorhanden waren, nur die Erscheinungen, wie sie bei der Normalperfusion auch auftraten (Ischämiezeit: 5 min).

In zwei anderen Proben mit einer längeren Ischämiezeit (30 min) konnten die gleichen Feststellungen gemacht werden.

Eine Stunde nach Ischämie kam es gleichmäßig in Zentrum und Peripherie zu einer Glykogenabnahme. Diese Beobachtung konnte an drei Präparaten gemacht werden. Diese Abnahme war keineswegs durch die Ischämie verstärkt, sondern entsprach derjenigen der Normalperfusion. In einigen Läppchen konnte dabei eine Abnahme vom Zentrum aus beobachtet werden. Bei zwei weiteren Proben zwei Stunden nach Ischämie zeigte sich die gleiche Glykogenabnahme wie nach einer Stunde. Eine Probe in der Peripherie ergab keine Abnahme im Glykogengehalt der Leber. Auch nach drei Stunden wiesen zwei Präparate keinen gesteigerten Glykogenabbau im Vergleich zur Normalperfusion auf.

c. Vergiftung mit Allylformiat

Eine Stunde nach Vergiftung und zwei Stunden nach Perfusionsbeginn wurden dem Zentrum in zwei Fällen Proben entnommen. Sie zeigten eine mäßige Erythrozyteninfiltration; in einem Fall war das Parenchym bereits schwammartig aufgelockert. Diese Veränderungen waren geringfügig stärker als

die zu entsprechenden Zeitpunkten bei der Normalperfusion.

Zwei Stunden nach Vergiftung wurden drei Proben aus dem Zentrum und drei aus der Peripherie genommen. Im Zentrum konnte eine mäßige bis starke Erythrozyteninfiltration festgestellt werden, das Parenchym war relativ gut erhalten. In der Peripherie kamen starke Erythrozytenkonzentrationen vor, welche sich über den gesamten Läppchenbereich erstreckten; das Parenchym wies dabei mäßige bis starke Auflösungerscheinungen und Dissoziation auf.

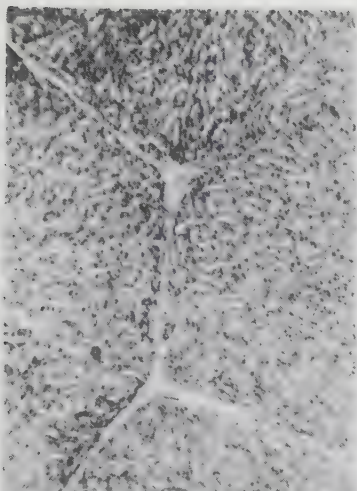
Im Glykogengehalt zeigte sich eine Stunde nach Vergiftung eine mäßige bis deutliche Abnahme in zwei Fällen aus dem Zentrum. Der Schwund erstreckte sich diffus über die Leberläppchen, ohne irgendwelche Bezirke in den einzelnen Lobuli zu bevorzugen. Nach zwei Stunden zeigte sich ebenfalls eine Abnahme gegenüber dem Glykogen in situ. Dieser Rückgang konnte in drei Fällen aus dem Zentrum beobachtet werden. Dabei handelte es sich bei zwei Proben um eine mäßige bis deutliche Abnahme, in einem Fall um einen starken Schwund. Drei Fälle aus der Peripherie ergaben das gleiche Bild. Der Schwund war diffus, nur in einer Probe aus der Peripherie konnte an der Läppchenperipherie eine stärkere Erhaltung des Glykogens beobachtet werden (s. Abb. 10).

Zwischen der Abnahme von der ersten zur zweiten Stunde waren keine Unterschiede zu entdecken, ebenso nicht zwischen Zentrum und Peripherie. Nur bei einer Probe ergab sich ein etwas stärkerer Abbau in der Leberperipherie als im Zentrum.

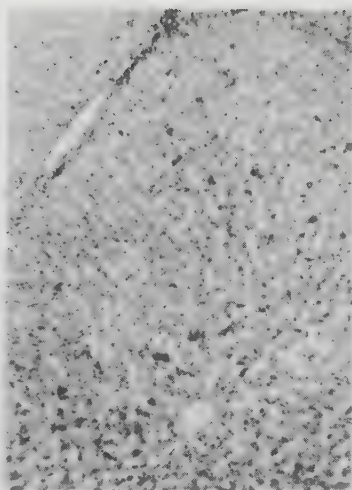
Eine Stunde nach Vergiftung war also wohl der Glykogenabbau und -stoffwechsel vollkommen gestoppt.

d. Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff

Im HE-Präparat konnte in drei Fällen, welche 1/2 Stunde nach Vergiftung und ca. 1 3/4 Stunden nach Perfusionsbeginn dem Zentrum entnommen waren, eine mäßige, diffuse Erythrozyteninfiltration beobachtet werden bei gut erhaltenem Parenchym. Diese Tatsache ließ sich auch 1 1/2 - 2 Stunden

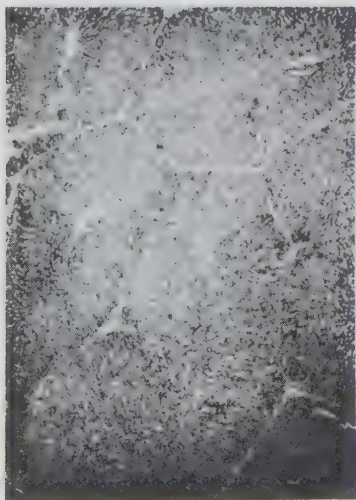


Leberglykogen - Normalbild

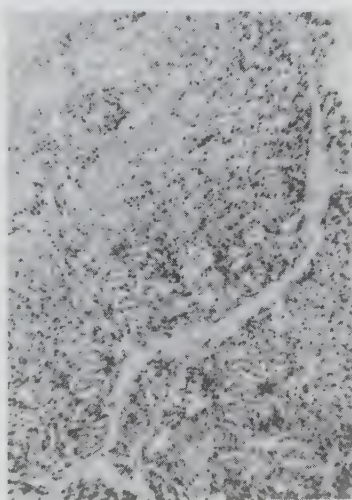


Leberglykogen nach 4 Stunden
Perfusion.

Abb. 9. Veränderungen im Glykogengehalt der Leber nach
heterologer, homologer und autologer Perfusion.



Leberglykogen - Normalbild.



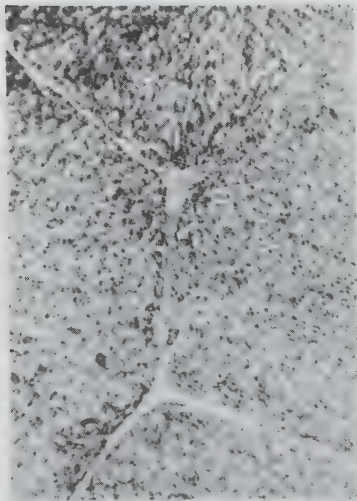
Leberglykogen bei Allylformiat-
vergiftung nach 2 Stunden.

Abb. 10 Veränderung im Glykogengehalt der Leber nach
Vergiftung mit Allylformiat.

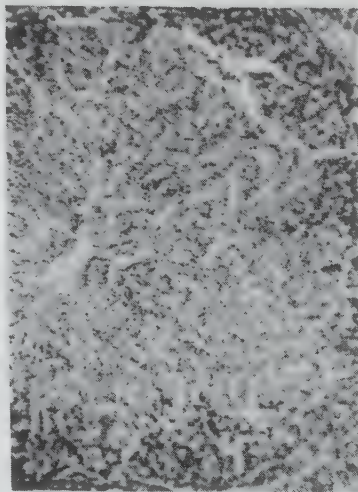
nach Vergiftung in vier dem Zentrum entnommenen Proben feststellen. In drei Fällen, die der Peripherie entstammten, kam es zu einer etwas stärkeren Erythrozytenansammlung bei mäßig erhaltenem Parenchym.

Insgesamt unterschieden sich die Veränderungen nicht besonders von denen der Normalperfusion zu ähnlichen Zeitpunkten. Die Schädigungen erstreckten sich über das ganze Leberläppchen, ein bevorzugter Angriffspunkt konnte nicht erkannt werden.

1/2 Stunde nach Vergiftung konnte eine Glykogenabnahme in drei Proben aus dem Zentrum beobachtet werden. Hauptsächlich wurde dabei das Glykogen im Läppchenzentrum abgebaut (s. Abb. 11).



Leberglykogen - Normalbild.



Glykogengehalt 1/2 Stunde
nach Vergiftung mit CCl_4

Abb. 11. Leberglykogen nach Vergiftung mit CCl_4

1 1/2 Stunden nach Vergiftung wurden dem Zentrum drei, der Peripherie 1 Probe entnommen. Im Zentrum erfolgte in zwei Fällen ein weiterer Schwund, in einem Fall trat keine Abnahme ein. In der Peripherie war der Abbau dagegen stärker.

Zwei Stunden nach Vergiftung zeigte eine Probe aus der Peripherie eine stärkere Glykogenabnahme als eine aus dem Zentrum.

Insgesamt betrachtet war jedoch der Glykogenschwund nicht viel stärker als bei den Normalperfusionen.

e. Klinische Perfusion am Patienten

Die Ergebnisse der Perfusionen am Patienten unterschieden sich nicht von denjenigen der heterologen, homologen und autologen Perfusionen.

3. Makroskopischer Anblick der Leber

Makroskopisch bot die Leber während der kalten Ischämiezeit eine gleichmäßig blaß-braune bis gräuliche Oberfläche, welche bei Beginn der Perfusion in eine rotbraune Farbe umschlug, die etwa 3 - 3 1/2 Stunden lang beobachtet werden konnte. Oft war auch eine blau-rot marmorierte Oberfläche zu sehen. Die ersten Veränderungen traten mit Beginn der vierten Stunde auf und zwar zuerst in der Peripherie. Es handelte sich um eine Schwarzfärbung, welche sich fleckförmig vereinzelt oder konfluierend über größere Lebergebiere erstreckte. Nach Allylformiat traten derartige Veränderungen sofort und weiträumig auf, nach CCl_4 in nicht so starkem Maß und etwas später. Die Versuche mit Ischämie entsprachen den Normalperfusionen. Im Bereich der Schwarzfärbung zeigten sich dann auch die größten histologischen Veränderungen.

4. Gewichtszunahme der Leber

Bei jedem Versuch wurde die Leber vor und nach Perfusion gewogen, wobei sich fast immer eine Gewichtszunahme feststellen ließ (s. Tab. 6).

Tab. 6. Lebergewichte

		Normalp.	Allylf.	CCl ₄	Isch.
Gewicht der Leber (g)	vor	585,9	597,5	602	617
	nach	647,8	767,5	707	712
Gewichtszu- nahme (%)		10,5	28,4	17,4	15,3
Anzahl der Meßwerte n		21	2	5	5

Eine signifikante Zunahme konnte jedoch in keinem Fall errechnet werden.

D. Diskussion der Ergebnisse

=====

Trotz der Ähnlichkeit der Schweineleber in funktioneller und immunologischer Hinsicht mit dem menschlichen Organ bestehen doch gewisse anatomische Unterschiede zu diesem. So zeigt die Schweineleber makroskopisch eine deutliche Lappung. Die einzelnen Lappen sind gestielt und werden isoliert mit Blut-, Lymph- und Gallengefäßen versorgt. Mikroskopisch zeigen sich polygonale Läppchen, welche von starken Bindegewebskapseln deutlicher als bei der menschlichen Leber unterteilt sind. Sonst gleicht das tierische dem menschlichen Organ im weiteren histologischen Aufbau, der als bekannt vorausgesetzt werden darf (6, 48). So kommt es, daß die Schweineleber aus diesen und den in der Einleitung bereits erwähnten Gründen sehr gut zur Perfusion und klinischen Anwendung geeignet ist.

Heterologe, homologe und autologe Perfusionen

Wie ZIMMERMANN (55) konnten auch wir keine histologischen Unterschiede zwischen autologen, homologen und heterologen Perfusionen erkennen. Daher wurden diese drei Perfusionsarten unter dem Begriff Normalperfusionen zusammengefaßt.

Die Leber, ein Organ mit sehr mannigfaltigen Funktionen, besitzt auch einen dementsprechend hohen Sauerstoffverbrauch. Als Durchschnittsverbrauch einer mit Blut durchströmten Leber findet man z. B. bei ZIMMERMANN (53) Zahlen zwischen 0,02 und 0,05 ml O_2 /min x g Lebergewicht, was unter Berücksichtigung der biologischen Streubreite mit dem am lebenden Tier und einer in situ befindlichen Leber gemessenen Wert von 0,034 ml O_2 /min x g Lebergewicht übereinstimmt (35). Die hohe Schwankungsbreite ist wahrscheinlich auf verschieden hohe Durchströmungsstärken und unphysiologische Umweltsbedingungen zurückzuführen, welche die Leber verschieden stark belasten. MARTINIS (35) nimmt eine autoregulative Verminderung des

Sauerstoffverbrauchs infolge der verminderten Anforderung von physiologischen Funktionen an.

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde ein Anfangssauerstoffverbrauch von $0,0225 \text{ ml O}_2/\text{min} \times \text{g Lebergewicht}$ gemessen, der im Verlauf einer vierstündigen Perfusion langsam zurückging, ohne daß eine signifikante Änderung nachgewiesen werden konnte. Im Zusammenhang mit den später beschriebenen histologischen Änderungen läßt dies wohl den Schluß zu, daß die Funktionsfähigkeit der Leber bis etwa zur vierten Stunde ausreichend gesichert ist. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Werte der Sauerstoffsättigung, welche sich, wenn auch mit Schwankungen, ungefähr um eine konstante Mittellinie bewegen. Auch der arterielle und venöse $p\text{O}_2$ bleiben in etwa konstant und signifikante Änderungen sind nicht nachzuweisen.

Die Möglichkeit einer Beeinflussung des Sauerstoffverbrauchs durch die fehlende Leberinnervation kann gemäß OBERDISSE (37) ausgeschaltet werden.

Es ist bekannt, daß mit zunehmender Menge des durchströmenden Bluts sich auch der Sauerstoffverbrauch der Leber steigert. Nach KEIDEL (29) ist die physiologische Blutstromstärke der menschlichen Leber $1,0 \text{ ml/min/g Lebergewicht}$. Dieser Wert wurde auch am lebenden Tier festgestellt (35). Ein optimaler Sauerstoffverbrauch bei Versuchen zeigte sich bei einem Flow von $0,75 - 1,0 \text{ ml/min/g Lebergewicht}$ (16, 34, 38). Eine Steigerung darüber hinaus führte nicht zu einer Zunahme des Sauerstoffverbrauchs (38).

In unseren Versuchen hielten wir konstant eine Durchflußmenge von $1,0 \text{ ml/min/g Lebergewicht}$ ein, so daß eine Beeinflussung des Verbrauchs von dieser Seite her nicht zu befürchten war.

Als weiterer, den Sauerstoffverbrauch beeinflussender Faktor ist die Art des Durchströmungsweges durch a. hepatica oder v. portae zu nennen. Physiologisch gelangen 75 % des Gesamtblutes, welches die Leber passiert, durch die v. portae; der Rest gelangt durch die a. hepatica (29, 39). Der Sauerstoff-

bedarf wird dabei zu je etwa 40 - 50 % durch v. portae und a. hepatica gedeckt (12, 29, 39). Bei erhöhtem Sauerstoffbedarf wird der Zustrom der v. portae vermindert und der Zustrom des Blutes der a. hepatica reflektorisch verstärkt (51). Bei der Leberperfusion kann zwar der Sauerstoff- und Blutbedarf durch die v. portae allein gedeckt werden, ohne daß merkliche Abschwächungen in der Aktivität und Funktionsfähigkeit der Leber zu befürchten sind (33, 54), aber der Sauerstoffverbrauch ist bei der arterio-venösen Perfusion mit $0,028 \text{ ml O}_2/\text{min} \times \text{g Lebergewicht}$ um 30 % signifikant höher als bei einer alleinigen venösen Perfusion mit $0,018 \text{ ml O}_2/\text{min} \times \text{g Lebergewicht}$ (16).

Um derartige Abweichungen zu verhindern, wurden in den oben beschriebenen Versuchen mit einer Ausnahme stets Leberarterie und Pfortader perfundiert.

Makroskopisch konnten an der Oberfläche der Leber Veränderungen der Farbe beobachtet werden, welche einen Schluß auf die Funktionsfähigkeit und den Zustand des Organs zuließen. Diese Meinung wird auch von SCHLEIFFER (41) unterstützt. Die Beobachtung, daß die Eigenfarbe der Leber bis etwa 3 - 3 1/2 Stunden erhalten blieb, dient zur Bestätigung der Gasanalysen, aus denen man auf eine derartig lange Funktionstüchtigkeit der Leber schließen kann. Im Bereich der Verfärbungen ließen sich dann auch die größten Schädigungen histologisch nachweisen.

Zurückführen läßt sich die Schwarzfärbung wahrscheinlich auf einen Ausfall gewisser umschriebener Lebergebiere, die durch trotz Heparinisierung auftretende Thromben von der Sauerstoffversorgung ausgeschlossen werden. Diese Fälle treten zuerst in der von vorneherein schlechter versorgten Peripherie auf und nehmen im weiteren Verlauf der Perfusion zu.

Neben der Verfärbung der Leber trat auch eine Gewichtszunahme auf, die vielleicht auf das sich bildende Ödem zurückzuführen ist. Während der Perfusion wurde eine Abnahme der im

System zirkulierenden Blutmenge bemerkt, was durch die Abnahme des Hb und der Erythrozytenzahlen und durch histologisch erkennbare Ödeme in den Leberläppchen bestätigt wird.

Die ersten morphologischen Veränderungen konnten bereits nach Durchspülung beobachtet werden. Diese Erweiterung der Sinusoide mag nur bedingt eine mechanische Folge des Perfusionsdruckes sein, der im Interesse eines schnellen Anschlusses an das System über dem physiologischen Druck lag, obwohl der Ausgang der Erweiterung von den Zentralvenen diese Folgerung nahelegen kann. Wahrscheinlich spielen jedoch auch Veränderungen der Zellwände und evtl. osmotische Vorgänge ebenfalls eine Rolle. So erwähnt z. B. DRAPANAS (16) ein interstitielles Ödem nach Durchspülung, dessen Ursache in den letztgenannten Gründen liegen muß; durch die vorliegenden Versuche konnte diese Annahme allerdings nicht bestätigt werden.

Bis zur Perfusionsdauer von 2 Stunden hielt sich die Leber in histologischer Hinsicht intakt. Es kam neben den schon bei Kaltperfusion festgestellten sinusoidalen Erweiterungen nur zu ganz geringen Schädigungen, die sich in einer Erythrozyteninfiltration in das Lebergewebe hinein bemerkbar machten. Man kann hier jedoch noch nicht von einer generellen Schädigung und Funktionseinschränkung der Leber sprechen.

Im Verlauf der weiteren Perfusion verstärkten sich die Veränderungen, die Gefäß- und Parenchymschäden wurden immer umfangreicher. Der Eintritt gravierender Veränderungen konnte nach vier Stunden Perfusionsdauer festgestellt werden. Neben den bereits vorher erwähnten Erscheinungen trat nun eine Zelldissoziation auf; es kam zu einer Parenchymauflösung, der Zellzusammenhalt lockerte sich, einzelne Zellen wurden zerstört. Bis zur Dauer von vier Stunden hielten sich die Schädigungen im Zentrum und der Peripherie in etwa die Waage, dann jedoch überwog die Peripherie.

Diese Veränderungen am Gefäßsystem und dem Parenchym kann man wahrscheinlich auf Thromben zurückführen, die sich im

Laufe der Perfusion aus Zellaggregaten bildeten. Daß ein Thrombozytenzerfall mit Freisetzung von gerinnungsfördernden Stoffen und eine Zerstörung von Erythrozyten eintreten, beweisen Absinken des Hb, der Erythrozyten- und Thrombozytenzahlen. Dieser Zerfall wird durch die mechanischen Läsionen durch Pumpe und Schläuche verursacht. Auch fanden wahrscheinlich schon während der Operation Mikroembolien in der Leber statt. Auch SCHLEIFFER (41) berichtet über ähnliche Vorgänge.

Die Beschädigung von Parenchym und Gefäßsystem wird durch viele Autoren bestätigt (6, 27, 28, 42). Die Veränderungen konzentrieren sich dabei auf das Läppchenzentrum (5, 11, 42), was durch unsere Beobachtungen bestätigt wird.

Das Glykogen wird ebenfalls verändert. Um jedoch einen Überblick über derartige Veränderungen zu erhalten, muß man sich erst einmal über die Frage der Verteilung des Glykogens klar werden. Bei Untersuchungen an der Rattenleber kamen GOMORI und GOLDNER (26) zu dem Ergebnis, daß der Glykogengehalt nicht nur im Verhältnis der einzelnen Lappen zueinander, sondern auch im Lappen selbst erheblich schwanke. Diese Behauptung wird von OBERDISSE (36) nicht bestätigt, der mit Ausnahme kleiner Differenzen von einer guten Übereinstimmung beim gleichen Organ spricht. Durch Versuche an der Katzenleber wird diese Meinung noch unterstützt (23). Auch die Untersuchungen an unseren Schweinelebern konnten keine gravierenden Unterschiede in den einzelnen Leberbezirken an den Tag bringen.

Im Verlauf der Perfusion kommt es zu einer Glykogenverarmung, die vor allem im Zentralbereich der Läppchen stattfinden soll (6 - 11, 42). Das Glykogen soll dabei bis zur dritten Stunde etwa unverändert bleiben (27, 45, 46).

In den eigenen Versuchen war ab der zweiten Stunde nach Perfusionsbeginn eine langsam zunehmende Glykogenverarmung festzustellen, wobei man in einigen Präparaten den Eindruck hatte, daß das Glykogen im Läppchenzentrum rascher verschwinden würde. In den zentralen Leberabschnitten wurde das

Glykogen rascher verbraucht als in der Peripherie. Hier war erst nach drei Stunden und später eine Abnahme nachzuweisen. Diese Tatsache läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß der Blutstrom und dadurch die Stoffwechselaktivität im Leberzentrum wahrscheinlich am größten sind. Dadurch könnte es hier also zu einem verstärkten und primären Glykogenabbau kommen.

Vergiftung mit Allylformiat

Allylformiat, ein klassisches Lebergift, wurde schon sehr oft bei Versuchen mit der Leber verwendet. Einer der ersten Autoren, der sich damit beschäftigte, war EPPINGER (21, 22). Nach ihm beruht die Wirkung des Allylformiates, kurz AF genannt, auf der Grundlage einer serösen Entzündung. Diese führt zu einer Erweiterung des Disséschen Räume und zu einer, zunächst rein funktionellen, dann jedoch auch histologisch erkennbaren Läsion der Kapillarwände. Letztere stellen sich verdickt dar. Außerdem beobachtete er eine Dissoziation des Leberzellgefüges. Infolge der Schädigung der Kapillarwände kommt es zu einem Austritt von Erythrozyten ins Gewebe. Durch die Verdickung der Zellmembran entsteht eine Verlängerung des Sauerstoffdiffusionsweges, die zu einer mangelhaften Sauerstoffversorgung der Zelle und somit zu Zellnekrosen führt. Neben diesen Erscheinungen kann man auch noch einen Glykogenschwund in den betroffenen Gebieten feststellen. Der Autor hält ihn für den ersten Schritt der Leberschädigung. Den Schwund erklärt er aus der fehlenden Resynthese infolge der akuten Erstickung.

Allerdings läßt sich nach neueren Forschungen (24) der Begriff der serösen Entzündung nicht mehr aufrechterhalten. Richtig dürfte die Schädigung der Kapillarwand sein, die jedoch in dem oben angegebenen Maß erst nach längerer AF-Vergiftung oder längerem Bestehen der reaktiven Vorgänge in der Leber möglich sein dürfte.

BENDA und Mitarbeiter (4) sprechen von einer direkten atemungshemmenden Wirkung des AF. Dabei schädigt es nicht nur die Kapillaren, sondern greift die Parenchymzelle direkt an und wirkt dabei zu 50 % atemungshemmend. Es handelt sich um die Hemmung des oxydativen Kohlehydratabbaus in den Kapillarendothelien, was dann zu einem mechanischen Versagen der Kapillarwand führt (24). Die Atemungshemmung beträgt nach FLECKENSTEIN (24) mit 46 % etwa genauso viel wie die Hemmung der glykolytischen Prozesse mit 48 %. Der aerobe wie der anaerobe Kohlehydratabbau wird in gleicher Weise beeinträchtigt.

Das AF wird im physiologischen Milieu verseift und in Allylalkohol und Ameisensäure zerlegt. Letztere ist in statu nascendi besonders aggressiv und verdrängt die sog. aktivierte Essigsäure am Coenzym A. Unter ihrem Einfluß gehen außerdem die Polypeptide eine irreversible Bindung über Imingruppen ein und vor allem werden dadurch die Atemungsfermente bleibend geschädigt. Der hauptsächliche Eingriff in den Kohlehydratstoffwechsel findet also bei den oxydativen Vorgängen statt. Daraus resultiert schließlich das mechanische Versagen der Kapillärwände und die anschließende morphologische Veränderung.

BENDA (4) stellte zuerst eine Hemmung, dann eine Steigerung der Stoffwechselvorgänge fest. Zuerst kommt es zu einer schweren Strukturschädigung mit nachfolgender Hemmung der Decarboxylierung und Oxydation. Die anschließende Steigerung sei als Reiz-Reaktionsstoffwechsel zu verstehen (53). Die Wirkung ist also hauptsächlich eine fermentative (17, 18, 30). Durchblutungsstörungen und Permeabilitätsstörungen sind zusätzliche Faktoren.

In den eigenen Versuchen zeigte sich in den Gasanalysen eine starke, schlagartig einsetzende Hemmung des Sauerstoffverbrauchs. Bei den Vergiftungen, die etwa 1 1/4 Stunden nach Perfusionsbeginn einsetzten, zeigten sich Störungen des Leberstoffwechsels, die bei den Normalperfusionen nach diesem

Zeitraum nicht beobachtet werden konnten. Unterstützt wird diese Annahme durch die Werte des pO_2 . Sowohl arteriell als auch venöse ergab sich ein steiler Anstieg mit geringer arterio-venöse Differenz als Beweis für eine nur noch geringe O_2 -Ausnützung. Dem entsprach makroskopisch eine schwärzlich-blaue Farbe mit nur noch wenigen normal gefärbten Parenchyminseln.

Histologisch machte sich die Vergiftung nach einer Stunde nur wenig stärker als bei den entsprechenden Zeitpunkten der Normalperfusion bemerkbar. Zwei Stunden nach Vergiftung machten sich die ersten größeren Schädigungen bemerkbar. Es kam sowohl im Leberzentrum als auch in der Peripherie zu besonders starken Erythrozyteninfiltrationen. Eine besondere Schädigung des Parenchyms in Form von Zellnekrosen konnte allerdings noch nicht beobachtet werden.

Deutlich jedoch zeigte sich eine schlagartige Hemmung der Glykolyse durch das AF. Der Glykogengehalt am Ende der Perfusion entsprach dem eine Stunde nach Vergiftung. Die Vergiftung war im Leberzentrum ebenso nachhaltig wie in der Leberperipherie.

Der Grund für diese Ergebnisse ist wohl darin zu suchen, daß trotz der heftigen Hemmung der Zellatmung die Reaktion der histologischen Strukturen eine gewisse Zeit braucht, um sichtbar zu werden. Daß die gesamte Leber etwa gleich geschädigt wurde, dürfte in der vollen Sättigung des Blutes mit AF begründet sein. Der Stoffwechsel wurde völlig zum Erliegen gebracht, so daß die Leber zu weiteren Funktionen nicht mehr in der Lage sein dürfte.

Ischämien

Der Sauerstoffmangel bedeutet für die Leberzellen den Ausfall des wichtigsten Wasserstoffakzeptors (52). Es entfällt dabei die gesamte dritte Stufe des Stoffwechsels - die Fermente der Atmungskette und des Zitronensäurezyklus arbeiten

nicht mehr - und die oxydative Phosphorylierung. Allerdings gelingt es den Zellen, sich umzustellen und im anaeroben Stoffwechsel mit Hilfe glykolytischer Fermente weiterhin Glykogen und Glukose zu Brenztraubensäure abzubauen. Damit wird eine Kompensation des fehlenden Sauerstoffs erreicht, auch wenn die Ausbeute um das 19 fache schlechter ist.

Bei den Ischämieversuchen zeigten die Gasanalysen, daß selbst die 30 minütige Hypoxie die Leber nicht irreversibel schädigte. Bei der Sauerstoffsättigung konnte man ein Absinken der venösen Sättigungswerte nach der Ischämie beobachten, was auf eine vermehrte Sauerstoffausnutzung des Blutes durch die Leber schließen läßt. Unterstützt wird diese Tatsache noch durch die Kurve des errechneten Sauerstoffverbrauchs. Hier zeigte sich 1/2 Stunde nach dem Absinken während der Ischämie eine Zunahme des Sauerstoffverbrauchs, der sich nach einer Stunde wieder normalisierte.

Auch in den histologischen Präparaten zeigte sich keine merkliche Schädigung des Leberparenchyms oder irgendeine abnorme Reaktion im Glykogenstoffwechsel. Auch hier konnten nur die bereits bei Normalperfusion festgestellten Vorgänge beobachtet werden.

Bereits in anderen Versuchen wurde beobachtet, daß die Leber gegenüber Hypoxie sehr unempfindlich ist. Allerdings bekamen die Organe in diesen Experimenten immer noch ein Sauerstoffminimum (7 % O_2 - 93 % N_2) zugeführt (43). Diese Organe zeigten auch elektronenmikroskopisch keine Veränderungen. Auch andere Autoren konnten nach Hypoxie keine Veränderungen an der Rattenleber beobachten (1, 47).

Zu dieser von uns beobachteten Unempfindlichkeit könnte die absolute Sterilität und die Zugabe eines Antibiotikums beigetragen haben. VAN WYK (54) beobachtete, daß auch nach einer Dauer von 4 - 6 Stunden nach Hepatektomie keine signifikante Autolyse und Degeneration der Leber festgestellt werden konnte, wenn diese Tiere ein Antibiotikum erhielten, das die anaeroben Bakterien an ihrer zersetzenden Wirkung

hinderte. Insgesamt konnten hier drei Stunden Ischämie ohne wesentlichen funktionellen Schaden ertragen werden.

Die von KETTLER (30) berichtete Glykogenabnahme bei Hypoxämie im Lappchenzentrum konnte bei den eigenen Versuchen nicht festgestellt werden.

Auf Grund dieser Tatsachen und der vorliegenden Versuche kann man wohl behaupten, daß die Leber durchaus in der Lage ist, auch im körperwarmen Zustand eine Anoxie bis 30 Minuten, wenn nicht länger, ohne wesentliche Einschränkung der Funktionsfähigkeit zu überstehen.

Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff

Neben dem AF ist der Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) eines der am häufigsten verwendeten Lebergifte. CCl_4 setzt ebenfalls wie AF Nekrosen, jedoch unterscheidet er sich in der Lokalisation dieser Nekrosen und in seiner Wirkungsweise vom AF.

Im histologischen Bild zeigt sich, daß CCl_4 nach einiger Zeit, etwa einer Stunde, zur Verfettung des Gewebes führt (15). Bei der Perfusion wird dabei das Gift gleichmäßig in der ganzen Leber verteilt und greift vorwiegend das Zentrum und die mittleren Drittel der Leberläppchen an (2, 3, 15, 18, 30, 32, 39, 44). Neben der Verfettung sieht man Nekrosen, Glykogenschwund und sinusoidale Verstopfung (13). Dabei wirkt das CCl_4 auf die Glukose-6-Phosphatase der Mitochondrien ein, weniger auf die Enzyme im Zytoplasma und führt zu einer Abnahme der Aktivität (31). Daraus resultiert eine Hemmung der Glykolyse. Die von anderen Autoren beschriebene Hemmung des Zitronensäurezyklus und der Oxydation der Fettsäuren rührt wahrscheinlich von dem Fehlen der Energiespender her (30, 44). Der Zeitpunkt der ersten pathologischen Veränderungen wird, was den Glykogenschwund anbelangt, mit 15 - 30 Minuten (32) oder mit einer Stunde (2, 13) angegeben. BASSI (3) beobachtete, daß CCl_4 zu einer Schwellung des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien führte, worauf Fett

in den Mitochondrien und im Hyaloplasma abgelagert wurde. Eine Konstriktion der Sinusoide wird ebenfalls diskutiert (25). Dadurch komme es zu einer Ischämie; diese und die Malnutrition würden die Nekrosen verursachen (25, 32). Sauerstoff würde also vor der CCl_4 -Einwirkung schützen.

In unseren Versuchen zeigte sich nach Vergiftung eine Abnahme des O_2 -Verbrauchs. Allerdings war die Schädigung nicht so gravierend wie bei AF, da die arterio-venöse Differenz der Sauerstoffpartialdrucke weniger abnahm. Auch verringerte sich die arterio-venöse Differenz der Sauerstoffsättigung nicht so stark wie bei Vergiftung mit AF.

Bei der histologischen Auswertung der eigenen Versuche stellte sich heraus, daß die Zellschädigung und die Schädigung der Kapillarwände im ganzen Leberläppchen diffus verteilt waren. Dabei war das Parenchym keineswegs sehr viel stärker geschädigt als bei der Normalperfusion. Nur in der Abnahme des Glykogens zeigte sich die oben erwähnte zentrale Verarmung. Der Glykogenabbau war jedoch auch nicht größer als bei der Normalperfusion. Anscheinend gelang es der gut durchbluteten und gut mit Sauerstoff versorgten Leber, das vorhandene Gift und dessen Wirkung zu kompensieren. Die Möglichkeit einer zu geringen Giftmenge dürfte nicht zutreffen. Daß die Leber in der Lage ist, eine Vergiftung mit CCl_4 zu überstehen, beweisen die Versuche von GLYNN (25). LEDUC (32) beschreibt z. G., wie nach einmaliger CCl_4 -Gabe die Entstehung der Nekrosen von einer rapiden Proliferation der überlebenden Zellen in der portalen Hälfte der Läppchen gefolgt war.

Neben der Tatsache einer geringeren Schädigung durch CCl_4 kann man als Erklärung noch anführen, daß bis zu vier Stunden nach CCl_4 -Gabe noch keine irreversiblen Schädigungen auftraten (31) und daß sich bei dauernder CCl_4 -Gabe oder hoher Anfangsdosierung - wie es in unseren Versuchen der Fall war - erst nach drei bis vier Stunden histologisch größere Schädigungen zeigten (2, 13, 25, 44).

Ein weiterer Hinweis für eine gegenüber AF geringere Leberschädigung ist die Farbänderung nach Vergiftung. Es kam zwar zu einer partiellen Schwarzfärbung, die jedoch lokalisiert war und nicht so schnell auftrat. Die Funktionen der Leber wurden so in den verhältnismäßig gut erhaltenen Parenchymbezirken weiterhin aufrechterhalten.

Klinische Perfusion am Patienten

Bei den Patientenperfusionen konnten mit Ausnahme eines etwas höheren O_2 -Verbrauchs keine Unterschiede gegenüber den experimentellen Perfusionen festgestellt werden. Dies traf auch für die histologische Auswertung zu.

E. Zusammenfassung

=====

1. Die Schweineleber kann bei einer Sauerstoffversorgung von 1,5 - 2 Litern/min, einem Flow von 1,0 ml/min/g Lebergewicht, bei Körperwärme und einem pH im physiologischen Bereich über die Dauer von vier Stunden, wenn nicht noch länger, funktionstüchtig gehalten werden.
2. Eine Vergiftung mit Allylformiat von 5 - 10 Minuten schädigt die Leber irreversibel und unterbricht jede weitere Funktion schlagartig.
3. Die Leber ist in der Lage, einen Zeitraum von 30 Minuten einer warmen Ischämiezeit verhältnismäßig gut und ohne irreversible Schäden zu überstehen.
4. Ebenso ist die Leber dazu fähig, eine einmalige Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff zu überwinden und ein ausreichendes Funktionsmaß beizubehalten.
5. Mit der Schweineleber kann ein hepatisches Koma eines Patienten zufriedenstellend bekämpft werden und es ist möglich, die Stoffwechselgifte aus seinem Blut vorübergehend zu entfernen.

Literaturverzeichnis

=====

1. ASHFORD TH. P., BURDETTE W. J.
Response of the isolated perfused hepatic parenchyma
to hypoxia
Ann. Surg. 2, 162 (1963)
2. ASHWORTH C. T., LUIBEL F. J., SANDERS E., ARNOLD N.
Hepatic cell degeneration. Correlation of fine
structural with chemical and histochemical changes
in hepatic cell injury produced by carbon tetra-
chloride in rats
Arch. Path. 75, 212 (1963)
3. BASSI M.
Electron microscopy of rat liver after carbon
tetrachloride poisoning
Exp. Cell Res. 20, 313 (1960)
4. BENDA L., LOCKER A., RISSEL E.
Zellstoffwechsel und Entzündungen. I. Mitteilung:
Stoffwechseleränderungen in der Leber nach Allyl-
formiatvergiftung
Z. ges. exp. Med. 117, 519 (1951)
5. BIBLER D. JR., CONDON R. E., HYHUS L. M.
Temporary use of ex-vivo heterologous liver for hepatic
insufficiency: Metabolic effects and sensitivity to
perfused protein in dogs
Ann. Surg. 1, 164 (1966)
6. BOECKL O.
Heterologe Leberperfusion. Eine Möglichkeit des
temporären Leberersatzes
Z. ges. exp. Med. 147, 81 (1968)

7. BOECKL O., HELL E.
Möglichkeiten des temporären und definitiven Leber-
ersatzes
Therapiewoche 1, 20 (1970)
8. BOECKL O.
Experimentelle Ergebnisse der heterologen Leberper-
fusion. Aus: Möglichkeiten des Leberersatzes S. 97
München, Berlin, Wien 1970
9. BOECKL O., HELL E., ZIMMERMANN G.
Lebersubstitution durch homologe und heterologe
extrakorporale Leberperfusion
Z. ges. exp. Med. 143 362 (1967)
10. BOECKL O., HELL E., ZIMMERMANN G., SCHROLL H.
Die Funktionsfähigkeit von Schweinelebern bei Per-
fusion mit Menschenblut
Wien.klin. Wschr. 79, 17 (1967)
11. BOECKL O., GALVAN G., GIBITZ H. J., HELL E., STAINDL O.,
STEINER H., ZIMMERMANN G.
Temporärer Leberersatz durch heterologe Leberperfusion
Langenbeck. Arch. klin. Chir. 318, 209 (1967)
12. BÜCHERL E., DÜBEN W.
Experimentelle Untersuchungen über O₂-Sättigung und
Druck in der v. portae nach Ligatur der a. hepatica
Langenbeck. Arch. klin. Chir. 278, 239 (1954)
13. CAMERON G. R., KARUNARATNE W. A. E.
Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver
regeneration
J. Path. Bact. 42, 1 (1936)
14. CHAPUIS Y., LEURIOT J.-P., NEVEUX J.-Y., WOELL G., LEGER L.
Vers une épuration hépatique artificielle. Foie maintenu
en circulation par un animal perfuseur
Presse med. 75, 1115 (1967)

15. CHRISTIE G. S., JUDAH J. D.
Mechanism of action of carbon tetrachloride on liver cells
Proc. Roy. Soc. Med. 142, 241 (1954)
16. DRAPANAS T., ZEMEL J., VANG J. O.
Hemodynamics of the isolated perfused pig liver
Ann. Surg. 3, 544 (1966)
17. EGER W.
Über Lebernekrosen und ihre Beeinflussung durch Penicillin
Aerztl. Forsch. 8, 517 (1954)
18. EGER W.
Das Verhalten der Phosphoamidase in der Leber bei CCl_4 - und Allylalkoholvergiftung
Virchow Arch. path. Anat. 325, 648 (1954)
19. EISEMAN B., LIEM D. S., RAFFUCCI F.
Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure
Ann. Surg. 162, 329 (1965)
20. EISEMAN B., KNIPE P., KOH Y., NORMELL L., SPENCER F. C.
Factors affecting hepatic vascular resistance in the perfused liver
Ann. Surg. 157, 532 (1963)
21. EPPINGER H.
Die Leberkrankheiten
Wien 1937
22. EPPINGER H., KAUCHNITZ H., POPPER H.
Die seröse Entzündung. Eine Permeabilitätspathologie.
IX. Die akute und chronische Allylamin- und Allylformiatvergiftung
Wien 1935

23. EVANS L. C., TSAI CH., YOUNG F. G.
The behaviour of liver glycogen in experimental animals.
I. Methods: The effect of ether and amytal
J. Physiol. (London) 73, 67 (1931)
24. FLECKENSTEIN A.
Beitrag zum Mechanismus der experimentellen serösen
Entzündung durch Allylformiat
Arch. Exper. Path. Pharm. 203, 151 (1944)
25. GLYNN L. D., HIMSWORTH H. P.
The intralobular circulation in acute liver injury by
carbon tetrachloride
Clin. Sci. 6, 235 (1948)
26. GOMORI G., GOLDNER M. G.
Uneven distribution of glycogen in the liver
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 66, 163 (1947)
27. HAM J. M., PIROLA R. C., DAVIDSON G. M., YARROW S.,
ELMSLIE G.
Pig liver perfusion for the treatment of acute hepatic
coma
Surg., Gynec., Obstet. 127, 543 (1961)
28. HELL E., PAULISSIAN E. B., TENNYSON C. H., DRAPANAS TH.
Indices of function of isolated perfused mammalian
liver. Aus Möglichkeiten des Leberersatzes S. 133
München, Berlin, Wien 1970
29. KEIDEL W. D.
Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie
Stuttgart 1967
30. KETTLER L. H.
Parenchymschädigungen der Leber
Ergebn. allg. Path. 37, 1 (1954)

31. KRÖNER H., STAIB W.
Leberenzyme bei akuter Tetrachlorkohlenstoffvergiftung
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6, 318 (1968)
32. LEDUC E. H., WILSON J. W.
Injury to liver cells in carbon tetrachloride poisoning
Arch. Path. 65, 197 (1958)
33. LIEM D. S., WALTUCH T. L., EISEMAN B.
Function of the ex-vivo pig liver perfused with human blood
Surg. Forum 15, 90 (1964)
34. MAINARDI L., QUINTANA E., GUTIERREZ V. S.,
RAFFUCCI F. L.
Determination of the optimum flow during ex-vivo liver perfusion
Surg. Forum 16, 290 (1965)
35. MARTINIS A. J., GOLDSWORTHY P. D., JONES T. W.,
NYHUS L. M., DE VITO R. V., VOLWILER W., HARK H.
Studies of hepatic physiology in the isolated perfused calf liver
Surg. Forum 9, 489 (1958)
36. OBERDISSE K., HERING H. W.
Glykogenneubildung an der isolierten durchströmten Leber; zugleich ein Beitrag zur Frage der Wirkung synthetischer NNR-Präparate auf den Glykogenansatz
Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharm. exp. Path. 205, 46 (1948)
37. OBERDISSE K., ECKARDT M.
Harnstoffbildung und Sauerstoffzehrung der isolierten Leber, ein Beitrag zur Frage der spezifisch-dynamischen Wirkung der Aminosäuren
Z. klin. Med. 132, 762 (1937)

38. PAQUET K. J., CERNY J., ECKERT P., HILLEBRAND R.,
BRÄUN H.
Erfahrungen mit dem extrakorporalen temporären Leber-
ersatz durch "biologische" Perfusion einer isolierten
Leber mit Spenderblut
Bruns Beitr. klin. Chir. 217, 171 (1969)
39. PEIFFER D.
Beeinflussung des Sauerstoffverbrauchs durch Nuklein-
säuren, dargestellt mit Leberhomogenaten sowie die
Beeinflussung des Allylalkoholschadens
Inaug. Diss. Mainz 1962
40. RUFFO A., ROSSOTTO P., MOTTA G., GEORGACOPUO P.,
FERRARIS R.
Kontinuierliche Perfusion einer isolierten Leber mit
Spenderblut
München. Med. Wschr. 109, 12 (1967)
41. SCHLEIFFER D.
Experimentelle Untersuchungen zur Morphologie und
Funktion der isolierten, mit autologem und hetero-
logem Blut perfundierten Leber unter besonderer Be-
rücksichtigung der Reinigung des Blutes von Ikterus-
kranken
Langenbeck. Arch. Chir. 324, 143 (1969)
42. SCHMIDT H., BOHLEY P., HANSON H.
Histologische Untersuchung zur Autolyse von durch-
strömten Rattenlebern
Acta biol. med. german. 15, 317 (1965)
43. SHOREY J., SCHENKER S., COMBES B.
Effect of acute hypoxia on hepatic excretory function
Amer. J. Physiol. 216, 6 (1969)

44. SMUCKLER E. A., ISERI O. A., BENDITT E. P.
An intracellular defect in protein synthesis induced
by carbon tetrachloride
J. exp. Med. 116, 55 (1962)
45. SOKAL J. E.
Role of the liver in the regulation and maintenance
of the blood glucose level
Surg. Forum 10, 222 (1959)
46. SOKAL J. E., MILLER L. L., SARCIONE E. J.
Glycogen metabolism in the isolated liver
J. Physiol. (London) 195, 295 (1958)
47. STEINER J. W., PHILIPS M. J., MIYAI K.
Ultrastructural and subcellular pathology of the liver
Int. Rev. exp. Path. 3, 65 (1964)
48. STOCKINGER L.
Ultrastrukturelle Veränderungen der Schweineleber bei
heterologer Perfusion. Aus: Möglichkeiten des Leber-
ersatzes S. 117
München, Berlin, Wien 1969
49. TAUBER J., STIRNEMANN H., VOGEL R., BUCHER H.,
STREBEL H., PREISIG R.
Quantitative assessment of functioning cell mass in
the perfused pig liver. Aus: Möglichkeiten des Leber-
ersatzes S. 148
München, Berlin, Wien 1969
50. TAUBER J., STIRNEMANN H., VOGEL P., BUCHER H.,
STREBEL H., PREISIG R.
Die Leistungsfähigkeit der isoliert perfundierten
Schweineleber
Schweiz. Med. Wschr. 16, 99 (1968)

51. WALLRAFF J.
Leitfaden der Histologie
München, Berlin 1954
52. WANNAGAT L.
Leber und Nachbarorgane. Zweite Lebertagung der
Sozialmedizin
Stuttgart 1962
53. WIELAND E.
Die Allylkoholschädigung der Rattenleber und ihre
Beeinflussung durch Prednisolon
Inaug. Diss. Leipzig 1965
54. VAN WYK J., LIEM D. S., EISEMAN B.
Function of cadaver liver
Surg. 58, 120 (1965)
55. ZIMMERMANN G., BOECKL O.
Unterschiede bei autologer, homologer und heterologer
Leberperfusion. Aus: Möglichkeiten des Leberersatzes
S. 155
München, Berlin, Wien 1969
56. ZIMMERMANN W. E., FISCHER B., BRAUN W., REHFELD K. H.,
BANNERT P., DIERKESMANN R., SEITZ D.
Untersuchungen bei isolierter Leberperfusion, Organ-
konservierung und temporärem extrakorporalem Leber-
ersatz des Menschen. Aus: Möglichkeiten des Leberer-
satzes S. 162
München, Berlin, Wien 1969

Lebenslauf

=====

Am 24. November 1946 bin ich als Sohn des kaufm. Direktors Willi Spreyer und dessen Ehefrau Eva, geb. Baldamus, verw. Spreyer, verw. Schellenbach, in Stadtsteinach/Ofr. geboren, röm.-kath. Konfession.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschule in Stadtsteinach und trat nach der 4. Klasse in das Humanistische Alte Gymnasium Bamberg, jetzt Kaiser-Heinrich-Gymnasium, ein, wo ich am 16. Juli 1966 das Reifezeugnis erhielt.

Nach der Zulassung zum Studium der Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg im Wintersemester 1966/67 legte ich am 2. August 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 7. Mai 1969 die ärztliche Vorprüfung mit Erfolg ab. Die ärztliche Prüfung bestand ich am 28. Juli 1972 mit Erfolg.

Ich bin seit dem 17. November 1971 verheiratet und habe keine Kinder.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990